

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(Diplôme d'Etat)

Soutenue devant la FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS en 1930

PAR

Maurice VALLÉE

Né à Alfort (Seine), le 18 Avril 1903

Sur l'Étiologie du Rouget

JURY { *Président* : M. LEMIERRE, prof. à la Faculté de Médecine.
 { *Assesseurs* { M. PANISSET, prof. à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort.
 { M. VERGE, prof. à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort.

TOULOUSE

IMPRIMERIE OUVRIÈRE

6, Rue Bayard, 6

1930

SUR L'ÉTIOLOGIE DU ROUGET

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(Diplôme d'Etat)

Soutenue devant la FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS en 1930

PAR

Maurice VALLÉE

Né à Alfort (Seine), le 18 Avril 1903

Sur l'Étiologie du Rouget

JURY { *Président* : M. LEMIERRE, prof. à la Faculté de Médecine.
 { *Assesseurs* { M. PANISSET, prof. à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort.
 M. VERGE, prof. à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort.

TOULOUSE

IMPRIMERIE OUVRIÈRE

6, Rue Bayard, 6

1930

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

PERSONNEL ENSEIGNANT

Directeurs honoraires : MM. P.-J. CADIOT et H. VALLÉE.

Directeur : M. E. NICOLAS

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général honoraire des Ecoles vétérinaires; P.-J. CADIOT, A. RAILLIET, H. VALLÉE.

PROFESSEURS

	MM.
Anatomie descriptive des animaux domestiques	BRESSOU.
Physiologie, thérapeutique générale	MAIGNON.
Physique et chimie médicales, toxicologie, pharmacie.	NICOLAS.
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique; zoologie.....	HENRY.
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, clinique; sémiologie et propédeutique, jurisprudence	ROBIN.
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, clinique; anatomie chirurgicale, médecine opératoire et ferrure.....	COQUOT.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique; médecine opératoire, obstétrique.....	LESBOUYRIES
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique.....	PANISSET.
Histologie et embryologie, anatomie pathologique; autopsies.....	PETIT.
Zootecnie et économie rurale.....	DECHAMBRE.
Agronomie, botanique et hygiène; matière médicale..	DECHAMBRE.
Industrie et contrôle des produits d'origine animale...	HENRY.
	VERGE.

PROFESSEUR AGRÉGÉ

M. LESBOUYRIES

CHEF DE TRAVAUX AGRÉGÉ

M. SIMONNET.

CHEFS DE TRAVAUX

MM. MONVOISIN - MOUSSU (R.).

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.



A Monsieur le Professeur LECLAINCHE

Membre de l'Institut
Inspecteur général, Directeur des Services Vétérinaires
au Ministère de l'Agriculture.
Grand Officier de la Légion d'Honneur

En témoignage de respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur NICOLAS

Directeur de l'Ecole d'Alfort
Officier de la Légion d'Honneur

*Qui nous a toujours témoigné tant de
sollicitude.*

A MES MAITRES DE L'ÉCOLE D'ALFORT

A Monsieur le Professeur LEMIERRE

Médecin des Hôpitaux
Chevalier de la Légion d'Honneur

*Qui a bien voulu nous faire l'honneur
d'accepter la présidence de notre Jury*

A Monsieur le Professeur PANISSET

Auditeur au Conseil Supérieur d'Hygiène
Chevalier de la Légion d'Honneur

ET

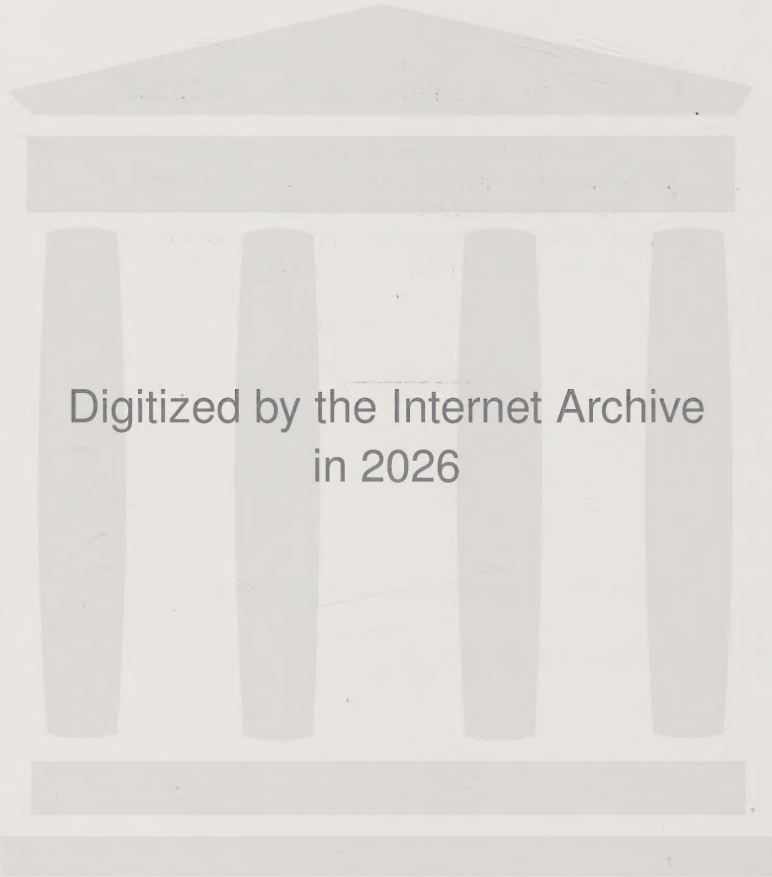
A Monsieur le Professeur VERGE

En gage de mon affectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Professeur H. VALLÉE

Directeur Honoraire de l'Ecole d'Alfort
Inspecteur général Chef des Services sanitaires
Membre de l'Académie de Médecine
Membre du Conseil supérieur d'Hygiène de France
Commandeur de la Légion d'Honneur

Mon père...



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AVANT-PROPOS

L'étude de l'étiologie du rouget, bien que largement poursuivie, ne demeure pas sans obscurités. Les observateurs et les chercheurs ont tour à tour précisé les fluctuations de l'infection, le rôle des eaux polluées dans sa propagation, l'intérêt des animaux porteurs de germes et celui des petites espèces animales dans la conservation de la virulence. Deux faits sont acquis sans contestation : il est des « pays à rouget » ; il est des « porteurs de germes », et cependant ces notions ne paraissent point avoir fait l'objet d'une étude profondément fouillée. Nous nous proposons de poursuivre celle-ci en de longues recherches.

En première analyse, nous avons cru devoir serrer d'un peu plus près que nos devanciers certains points de l'étude bactériologique du bacille du rouget. Nous avons ensuite poursuivi une enquête aussi large que possible sur la répartition de l'infection sur notre sol et dans ses rapports avec la constitution de celui-ci.

Entrant enfin plus avant dans notre sujet, nous avons étudié les conditions du développement du bacille dans les sols et diverses manifestations de l'antagonisme microbien.

Ces parties de nos recherches forment la matière de la présente thèse.

PREMIÈRE PARTIE

Etude comparée des divers milieux de culture favorables au bacille du Rouget

On sait, depuis les travaux de Pasteur, que le bouillon peptoné, d'usage courant dans les laboratoires, est un milieu favorable au développement du bacille du rouget.

La pullulation toutefois n'y atteint pas une apparence particulièrement luxuriante et les cultures obtenues sont d'aspect plutôt pauvres.

Sur milieux solides, le rendement microbien n'apparaît guère supérieur. Nombreux sont donc les bactériologistes qui ont tenté d'améliorer le rendement cultural des milieux peptonés classiques en leur incorporant diverses substances favorables, en principe, au meilleur développement du bacille de Pasteur et Thuillier. C'est ainsi que Kitt paraît avoir utilisé pour la première fois l'addition aux milieux de culture, de sérum de cheval. Un peu plus tard, Mesnil (1898), dans ses études sur l'immunité contre le bacille du rouget, réalise la culture dans du sérum de lapin vacciné.

Ce sont ensuite Bridré et Jouan qui, en 1914, utilisent, dans un but spécial, un bouillon additionné de 10 p. 100 de sérum de cheval normal ou hypervacciné contre le rouget.

Plus récemment encore, Cotoni préconise l'addition au bouillon de culture d'un tiers de liquide d'ascite dans le but d'en améliorer les qualités culturales.

Par analogie, l'addition de glucose a été préconisée par divers auteurs et tout d'abord, semble-t-il, par Gordan. De son côté, Cotoni use du même moyen en l'associant ou non à l'emploi du sérum.

Il nous a paru indiqué de reprendre ces diverses expériences et d'étudier par surcroît l'usage d'autres substances susceptibles de favoriser le développement du bacille du rouget.

Nous avons cru bon d'introduire dans toutes ces recherches des mesures exactes par les moyens néphéométriques, qui ne semblent pas avoir été utilisés jusqu'ici, en pareille matière. Nous avons étudié ainsi : le bouillon peptoné de formule classique, ce même milieu diversement enrichi de glucose ou de lactose à l'état de pureté et à des taux variables, ce même bouillon peptoné encore additionné de sérum; nous avons examiné enfin les résultats obtenus par l'association de ces diverses substances entre elles et au même bouillon considéré. Il nous a paru intéressant, aussi, de rechercher les conditions de la culture du bacille du rouget dans un milieu d'un intérêt bactériologique très spécial, le bouillon de foie peptoné.

Nous avons enfin étudié le développement du microbe dans le lait de vache et dans le lactosérum qui en procède. Cette dernière étude a été spécialement poursuivie dans un but de contribution à l'étiologie du rouget.

Si les renseignements que nous avons pu recueillir sont aussi exacts qu'il nous est permis de le supposer, le rouget ne serait jamais constaté sous la forme enzootique dans les porcheries annexes des laiteries.

Dans ces établissements, les porcs sont essentiellement nourris de lactosérum, résidu de l'industrie considérée. On peut prévoir que l'acidité du lactosérum qui ne fait que s'accroître à mesure que ce produit est conservé après son obtention, le rend impropre au développement du bacille de Pasteur et de Thuillier. Il peut,

en outre, représenter un antiseptique intestinal, tandis que les éléments microbiens qu'il renferme sont susceptibles de jouer le rôle de microbes antagonistes à l'égard du bacille du rouget. Il est donc d'un réel intérêt de préciser ce point particulier de la biologie du microbe qui nous occupe.

Pour un ensemble de raisons analogues, nous avons cru devoir poursuivre à nouveau l'étude de la culture du bacille dans le lait.

On verra intervenir sans cesse dans l'étude qui suit la notion de pH. Elle n'est pas étudiée spécialement dans les lignes qui vont suivre, un chapitre étant consacré d'autre part à son examen.

Comparaison entre le bouillon peptoné normal et le bouillon peptoné glucosé à 2 p. 1.000 aux différents pH.

Le bouillon glucosé est obtenu par addition d'une solution saturée de glucose au bouillon peptoné déjà préparé et avec lequel la comparaison est établie, afin que les deux bouillons soient rigoureusement équivalents quant à leur préparation.

Pour les coefficients on suppose $40 = 1$. Voir page 37 (*Etude du pH*).

Culture en bouillon ordinaire et glucosé *Mesures néphélométriques (Cultures achevées).*

L'expérience porte sur trois races utilisées dans toutes nos expériences.

L'étude comporte des milieux aux pH suivants : 5,8, 6,9, 7,6, 8,4, en bouillon glucosé ou non.

Les cultures sont appréciées au néphélomètre; on mesure également le pH après culture.

En ce qui concerne la Race I :

Au pH 5,8, rien ne pousse dans aucun milieu, le pH final reste 5,8.

Au pH 6,9, la note attribuée à la culture d'après la lecture néphélométrique est.. 2,5 pour le non glucosé.
2,94 pour le glucosé.

Au pH 7,6..... 2,35 pour le non glucosé.
2,66 pour le glucosé.

Au pH 8,4..... 1,33 pour le non glucosé.
2,98 pour le glucosé.

(Voir Tableau, folio 15)

La culture en bouillon glucosé est donc bien meilleure, surtout en pH élevé, où elle est double de celle obtenue en milieu non glucosé.

RACE II :

Au pH 5,8..... 0 non glucosé.
1 glucosé.

Au pH 6,9..... 2,16 non glucosé.
2,75 glucosé.

Au pH 7,6..... 2,18 non glucosé.
3,41 glucosé.

Au pH 8,4..... 1,84 non glucosé.
3,20 glucosé.

(Voir Tableau, folio 15)

La différence est encore plus nette ici que pour la race I et la même remarque s'impose pour les pH élevés.

Les indications fournies par le pH après culture sont du même ordre.

Au pH 5,8, rien ne pousse.

Au pH 6,9.....	1,66 non glucosé.
	1 glucosé.
Au pH 7,6.....	1,53 non glucosé.
	2,15 glucosé.
Au pH 8,4.....	1,33 non glucosé.
	1 glucosé.

Ici, les chiffres sont contradictoires; à noter toutefois qu'au pH 7,6 le glucosé est bien supérieur au non glucosé.

	NON GLUCOSÉ			GLUCOSÉ		
	Néphélo.	Coeff.	pH. ap. cult.	N.	C.	pH. ap. cult.
RACE I.						
pH 5,8....	40	0	5,8	40	0	5,8
6,9....	16	2,5	7	13,6	2,94	5,4
7,6....	17	2,35	7,4	15	2,66	6,8
8,4....	30 base	1,33	7,8	13,4	2,98	6,8
RACE II.						
pH 5,8....	»	»	»	40	1	5,8
6,9 (1) .	18,5	2,16	6	14,5	2,75	5,7
6,9 (2) .	20,4	1,96	6	»	»	»
7,6....	18,3	2,18	7,2	11,7	3,41	6,8
8,4....	21,7	1,84	7,7	12,5	3,20	6,8
RACE III.						
pH 5,8....	40	0	5,8	40	0	5,6
6,9....	24	1,66	6	40	1	5,8
7,6....	26	1,53	7,5	18,6	2,15	6,8
8,4....	30 base	1,33	8	40	1	6,8

Cette expérience permet de conclure à la nette supériorité du bouillon glucosé qui permet une faible culture au pH 5,8, impossible autrement, pour une seule

race il est vrai, et qui, par ailleurs, favorise d'autant plus le développement, comparativement au bouillon ordinaire, que le pH est plus élevé.

**Comparaison entre les bouillons Martin
glucosés 2 p. 1.000 et 1 p. 1.000**

EXPÉRIENCE I. — A partir d'un même bouillon Martin de pH 7,6 fraîchement obtenu, on prépare deux séries de tubes de culture. A la première, on ajoute 2 p. 1.000 d'une solution saturée de glucose, à la seconde 1 p. 1.000.

Ces tubes sont ensemencés avec la souche R. III et placés à l'étuve à 37°.

Examinées à la seizième heure, toutes ces cultures sont bien développées et ne révèlent à l'œil, comme au microscope, aucune différence appréciable.

Ces cultures, après un séjour de quarante huit heures à l'étuve, sont placées à l'obscurité, à la température du laboratoire, et les tubes sont coiffés de caoutchouc.

Un examen de tous les tubes des deux séries, dix jours après l'ensemencement, donne les résultats moyens suivants :

1° *B. Martin glucosé 1 p. 1.000.* — Le pH moyen des différentes cultures est de 6,4. Le dépôt au fond du tube est abondant. Au microscope, culture abondante, formes grêles longues (demi-diamètre du champ au maximum), peu gramophiles; agglutination très peu marquée.

2° *B. Martin glucosé 2 p. 1.000.* — Le pH moyen est de 6,6, dépôt peu important. Culture très abondante, de formes régulières, normalement gramophiles, avec légère tendance à l'agglutination.

De cette expérience, il est difficile de conclure à une préférence pour l'un ou l'autre milieu. Toutefois, le

bouillon glucosé à 2 p. 1.000 semble donner des formes bacillaires plus régulières.

EXPÉRIENCE II. — Une deuxième expérience est tentée exactement dans les mêmes conditions, mais l'ensemencement est réalisé dans chaque série avec les trois races R. I, R. II, R. III.

Dans les premiers jours de culture, aucune différence appréciable.

Les cultures sont examinées au bout de quinze jours. En bouillon glucosé à 1 p. 1.000, comme à 2 p. 1.000, le milieu est devenu limpide. Un dépôt abondant est à la partie inférieure des tubes, dépôt dont le diamètre varie de 2 mm. 5 à 4 mm. pour le bouillon à 2 p. 1.000, avec une moyenne de 3 mm. pour les trois souches. Pour le bouillon à 1 p. 1.000, le diamètre du dépôt varie de 2 à 3 mm. 5, avec une moyenne de 2 mm. 8.

Sans attacher à ces chiffres une valeur trop précise, l'impression se dégage cependant que le dépôt est plus important avec le bouillon glucosé à 2 p. 1.000.

Les mesures du pH donnent très exactement 6,6 pour le B. glucosé 1 p. 1.000, quelles que soient les souches qui ont été ensemencées, R. I, R. II, R. III. De même, pour le B. glucosé 2 p. 1.000, le pH est, pour toutes les cultures, descendu à 6,4.

Cette légère différence dans le pH vient confirmer la différence constatée au sujet des dépôts dans les cultures; le pH, plus bas avec le B. glucosé 2 p. 1.000, indique une activité plus grande de la culture comparativement au B. glucosé 1 p. 1.000.

En conclusion de ces deux expériences, nous dirons qu'il y a très peu de différence entre les deux milieux, mais qu'un léger avantage doit cependant être accordé au bouillon glucosé à 2 p. 1.000.

**Comparaison entre les bouillons Martin
lactosés à 1 p. 1.000 et 2 p. 1.000**

EXPÉRIENCE I. — A partir d'un bouillon Martin de pH 7,6 fraîchement préparé, on fait deux séries de tubes; dans les uns, on ajoute 2 p. 1.000 d'une solution saturée de lactose; dans les autres, 1 p. 1.000 de cette même solution.

Tous les tubes sont ensemencés avec une race R. III, puis placés à l'étuve à 37°.

L'examen de ces cultures, pratiqué à la seizième heure, montre dans les deux séries les résultats moyens suivants :

1° *Bouillon Martin lactosé 1 p. 1.000.* — Culture très abondante, dont l'examen microscopique révèle les formes régulières plutôt longues, avec quelques chaînettes. Tendance à l'agglutination.

2° *Bouillon Martin lactosé 2 p. 1.000.* — Culture très abondante, formes longues, quelques-unes très longues entortillées, dont les extrémités dépassent souvent le diamètre du champs. Légère tendance à l'agglutination.

Les cultures, après quarante-huit heures, sont sorties de l'étuve et laissées à la température du laboratoire à l'obscurité.

Examinées dix jours après l'ensemencement, on constate dans tous les tubes un dépôt assez abondant.

L'examen microscopique montre :

1° *Pour le bouillon Martin lactosé 1 p. 1.000.* — Culture très abondante; les formes bacillaires sont plutôt grêles; nombreuses formes longues et très longues, sinueuses, sans être entortillées cependant, plus grandes que le diamètre du champ.

Certains bacilles sont peu gramophiles; enfin, l'agglutination est marquée.

2° *Pour le bouillon Martin lactosé 2 p. 1.000.* — Même abondance de la culture, même longueur des formes bacillaires, dont la réaction est régulièrement gramophile, même agglutination.

Cette expérience montre simplement l'équivalence des deux milieux de culture examinés.

EXPÉRIENCE II. — Une deuxième expérience est réalisée exactement dans les mêmes conditions; mais, dans chaque série, les ensemencements sont réalisés au moyen des trois souches R. I, R. II, R. III.

Dans les premiers jours de la culture, il n'y a pas de différence appréciable entre les deux milieux. Au bout du dixième jour, les milieux de culture ne sont pas complètement décantés, mais, cependant, le dépôt est trop important pour que la mesure néphélométrique soit valable.

Nous sommes obligés de nous contenter de l'appréciation, aussi précise que faire se peut, du dépôt accumulé au fond du tube.

Ce dépôt, dans tous les tubes, est difficile à détacher par agitation et semble particulièrement visqueux. La mesure des dépôts donne les résultats suivants :

1° *Bouillon Martin lactosé 1 p. 1.000.* — Le diamètre des dépôts varie de 3 à 7 mm., avec une moyenne de 4 mm. 5. La souche R. III donne les plus beaux dépôts, en moyenne 5 mm.

2° *Bouillon Martin lactosé 2 p. 1.000.* — Le diamètre du dépôt varie de 2 mm. 8 à 4 mm., la moyenne étant 3 mm. Un des tubes R. III ne donne qu'un dépôt très mal rassemblé ne pouvant être mesuré.

En ce qui concerne la variation de la réaction du milieu, le bouillon lactosé 1 p. 1.000 voit son pH atteindre :

R. I		6,1
R. II		6,6
R. III		6,6

En ce qui concerne le bouillon lactosé 2 p. 1.000, le pH, après dix jours de culture, est respectivement :

R. I		6,5
R. II		6,6
R. III		6,6

On voit que ces chiffres sont particulièrement comparables deux à deux pour une même souche.

De cette seconde expérience, nous pouvons conclure à un léger avantage en faveur du bouillon lactosé à 1 p. 1.000, car les dépôts formés sont nettement plus importants. Mais, est-ce là un argument suffisant pour entraîner une conclusion inattendue, à priori, à savoir que 1 p. 1.000 de lactose favorise plus la culture du *B. du rouget* que 2 p. 1.000? Nous ne le croyons pas, d'autant que la première expérience montre l'équivalence aussi rigoureuse que possible des deux milieux et ce sera là la conclusion globale de cet essai.

Il est à remarquer combien le milieu lactosé favorise l'apparition de formes longues ou très longues dans les cultures du bacille du rouget; nous revenons d'ailleurs sur cette constatation dans un paragraphe spécial de notre étude.

**Comparaison entre un même bouillon peptoné,
soit glucosé, soit lactosé, à 2 p. 1.000, avec ou sans sérum**

EXPÉRIENCE I. — Bouillons utilisés pH 7,6; Race II. Certains tubes sont pourvus d'un fragment de carbonate de chaux. Mesures néphélométriques après seize heures et après quarante-huit heures, pH après culture :

	16 HEURES			48 HEURES		
	N.	Coeff.	pH.	N.	Coeff.	pH.
Bouillon glucosé.	4,2	9,5	5,8	9	4,4	5,8
Bouillon lactosé.	4	10	6	4,5	8,8	5,6
Bouillon glucosé carbonaté.....	4,4	9,1	6	10	4	6
Bouillon lactosé carbonaté.....	5	8	7,6	7,2	5,5	7,3
Bouillon glucosé sérum.....	4,5	8,8	5	3	13,3	5
Bouillon lactosé sérum.....	4,8	8,3	5,8	4,2	9,5	5,1

En bouillon non additionné de sérum, après seize heures de culture, les deux milieux peuvent être considérés comme équivalents. Nette supériorité du bouillon lactosé après quarante huit heures, les mesures étant faites, bien entendu, sur deux tubes différents, l'un a la seizième heure, l'autre pour la quarante-huitième heure.

En bouillon carbonaté, après seize heures, léger avantage pour le bouillon glucosé; après quarante-huit heures, léger avantage au bouillon lactosé.

En bouillon sérum, après seize heures, les deux cul-

tures sont à peu près équivalentes; après quarante-huit heures, prépondérance du bouillon glucosé.

Dans l'ensemble, ces résultats équivalents ou opposés deux à deux pour un même bouillon, conduisent à penser à une égale valeur des deux bouillons.

EXPÉRIENCE II. — Bouillons utilisés :

Peptoné glucosé à 2 p. 1.000..... pH 7,4

Peptoné lactosé à 2 p. 1.000..... pH 7,4

rares I, II, III.

Mesures néphélométriques à la quarante-huitième heure et mesure du pH après culture :

On aensemencé pour chaque race trois tubes de chacun des bouillons.

	B. GLUCOSÉ			B. LACTOSÉ		
	N.	Coeff.	pH.	N.	Coeff.	pH.
1° R. I :						
1.....	9,5	4,2	7	8	5	7
2.....	8,6	4,6	7	9,4	4,2	7,2
3.....	5,3	7,5	7,1	9,8	4,1	7,2
	16,3			13,3		

Les cultures 1 et 2 glucosé et 2 et 3 lactosé sont comparables; glucosé 3 est supérieure à lactosé 1; donc léger avantage pour le milieu glucosé.

	GLUCOSÉ			LACTOSÉ		
	N.	Coeff.	pH.	N.	Coeff.	pH.
2° R. II :						
1.....	6,7	5,9	7	9	4,4	7,2
2.....	6,4	6,2	7,2	7	5,7	7,2
3.....	12	3,3	7	6	6,6	7
	15			16,7		

Les cultures 1 et 2 bouillon glucosé sont supérieures aux cultures 1 et 2 bouillon lactosé; au contraire, la culture 3 bouillon glucosé vaut la moitié seulement de la culture 3 bouillon lactosé.

La somme des coefficients donne l'avantage au bouillon lactosé, contrairement à ce qui se passe pour R. I.

	GLUCOSÉ			LACTOSÉ		
	N.	Coeff.	pH.	N.	Coeff.	pH.
3° R. III :						
1.....	6,7	5,9		22	1,2	7,2
2.....	9,5	4,2	7,2	5,3	7,5	7,2
3.....	9,5	4,2	7,2	6	6,6	7,2
		14,3			15,3	

Si l'on excepte la culture 1 bouillon lactosé, nettement inférieure, le milieu lactosé semble plus favorable que le bouillon glucosé à la culture de R. III, ainsi que l'indique d'ailleurs la somme des coefficients.

En résumé, pour R. I, le bouillon glucosé est préférable; pour R. II, R. III, le bouillon lactosé est avantageux. Dans cette expérience, le bouillon lactosé l'emporterait donc, mais de bien peu, sur le milieu glucosé.

En conclusion aux expériences I et II nous dirons que les milieux de culture glucosé et lactosé sont de même valeur, le léger avantage constaté parfois au profit de ce dernier étant trop inconstant pour justifier une utilisation courante.

Comparaison entre bouillon foie (air et anaérobie) et bouillon peptoné normal

Le pH initial des deux milieux est de 7,6.

Les cultures sont mesurées au néphélomètre, après dix-huit heures. L'expérience porte sur les trois races, R. I, R. II et R. III.

	B. PEPTONÉ		B. FOIE			
	N.	Coeff.	AÉROBIE		ANAÉROBIE	
			N.	Coeff.	N.	Coeff.
R. I.....	10	4	10	4	14,6	2,74
R. II.....	6,8	5,88	12	3,33	20,5	1,95
R. III....	6,5	6,15	12	3,33	15	2,66
		16,03		10,66		7,35

Supériorité évidente du bouillon peptoné normal sur les deux bouillons foie.

Le bouillon foie se révèle donc comme un mauvais milieu de culture pour le bacille du rouget, le bouillon peptoné normal étant lui-même très inférieur au bouillon glucosé, ainsi que nous l'avons vu précédemment.

Influence de la saturation par le carbonate de chaux dans les différents milieux

EXPÉRIENCE I. — On compare deux à deux différents milieux de culture préparés avec ou sans addition de carbonate de chaux, représenté par des cubes de craie.

On effectue les mesures néphélométriques à la seizième heure et à la quarante-huitième heure. On mesure le pH après culture.

Le bouillon utilisé est fixé au pH 7,6.

	16 ^e HEURE			48 ^e HEURE		
	N.	Coeff.	pH.	N.	Coeff.	pH.
B. simple sans craie...	4,4	9,1	7,4	10	4	7,6
— avec craie...	7,2	7,6	8,4	11,4	3,5	8,4
B. glucosé sans craie...	4,2	9,5	5,8	9	4,4	5,8
— avec craie..	4,4	9,1	6	10	4	6

	16 ^e HEURE			48 ^e HEURE		
	N.	Coeff.	pH.	N.	Coeff.	pH.
B. lactosé sans craie...	4	10	6	4,5	8,8	5,6
— avec craie..	5	8	7,6	7,2	5,5	7,3
B. glycérine sans craie.	18,8	2,1	7,1	12	0,9	7,1
— avec craie.	20,7	1,9	8,1	36,8	1,8	8,2
B. sérum sans craie....	6,9	5,7	7,1	10,2	3,9	7,5
— avec craie....	7,5	5,3	8,2	10,2	3,9	8,2

Les résultats consignés dans le tableau ci-dessus montrent la supériorité évidente des milieux non additionnés de craie.

Supériorité nette pour le bouillon simple, plus faible pour le bouillon glucosé, très marquée pour le bouillon lactosé, et pour le bouillon glycérimé après seize heures. Nous verrons, d'autre part, ce qu'il y a lieu de penser des mesures néphélométriques après quarante-huit heures de culture.

Pour le bouillon sérum, il y a, à peu de chose près, équivalence des deux milieux.

Si l'on fait la somme des coefficients néphélométriques obtenus avec les bouillons sans craie, d'une part, et avec les bouillons avec craie, d'autre part, mesurés après seize heures de culture, on obtient le tableau suivant :

	Avec craie	Sans craie
Simple	7,6	9,1
Glucosé	9,1	9,5
Lactosé	8	10
Glycériné	1,9	2,1
Sérum	5,3	5,7
	31,9	36,4

Ceci montre bien dans l'ensemble la supériorité des milieux de culture sans craie.

On remarque dans le premier tableau que le pH après culture reste très élevé dans les milieux additionnés de craie, ce qui était à prévoir. Le pH, qui souvent avoisine 8,4, représente sans doute la raison de la pauvreté des cultures envisagées, car à ce pH la culture est moins bonne qu'à 7,6 (V. autres expériences sur le pH optimum).

Il y a tout lieu de penser que c'est bien dans la variation de la valeur pH que réside la différence notée, puisque dans le bouillon sérum les deux cultures sont équivalentes.

Nous verrons, en effet, d'autre part, que le sérum joue le rôle de solution tampon.

Culture du bacille du rouget dans le lait entier

On utilise dans cette expérience du lait entier stérilisé à 110 degrés pendant vingt minutes.

On ensemence trois séries de tubes avec chacune des trois souches R. I, R. II, R. III.

Les tubes sont placés à l'étuve à 37°.

Examinés à la seizième heure, ils ne présentent pas de coagulation. L'examen microscopique révèle pour les trois souches le même aspect de culture : formes bacillaires régulières normales, très gramophiles.

Après quarante-huit heures d'étuve, toujours aucune modification du milieu, la culture, identique dans les trois souches, est régulière de forme avec tendance aux chaînettes.

Sorties de l'étuve, ces cultures sont placées à l'obscurité à la température du laboratoire.

Huit jours après l'ensemencement, les cultures montrent des formes longues assez fréquentes, toujours bien

gramophiles et quelques chaînettes. Des repiquages sont pratiqués de semaine en semaine, quatre-vingt-quinze jours après l'ensemencement, le repiquage ne reproduit pas la culture (ensemencement pratiqué en bouillon peptoné ordinaire de pH 7,6). Même au bout de ce temps, le lait n'est pas coagulé et la crème est complètement remontée en surface.

Culture du bacille du rouget en lactosérum

On sait toute l'importance prise par l'alimentation du porc à l'aide de divers résidus industriels. Le lactosérum issu des grandes fromageries est à ce titre le plus employé.

Constitue-t-il pour le bacille du rouget un milieu de culture favorable? Son acidité naturelle va sans cesse en croissant depuis le moment de sa récolte jusqu'à l'heure de sa mise en consommation. A elle seule, elle doit suffire à protéger un aliment aussi précieux contre toute pollution par le bacille de Pasteur et de Thuillier.

Il ne faut pas oublier, toutefois, qu'en dépit de la concurrence si active des ferments lactiques, certaines espèces microbiennes, en se développant dans le petit lait, peuvent en corriger l'acidité et rendre désormais possible la pullulation du bacille du rouget et d'autres espèces pathogènes. Quel peut être, en pareille occurrence, le rôle des antagonismes microbiens?

C'est tout un problème, non encore étudié, croyons-nous, qui se trouve ainsi posé. Voici donc quelques expériences sur son objet. Elles ne sont que les préliminaires d'une longue série de recherches que nous nous proposons de poursuivre sur cette intéressante question.

EXPÉRIENCE I. — On prépare plusieurs tubes d'un même lactosérum commercial ajustés à chacun des pH suivants : 5,4, 6,6, 7,6, 7,8, 8,4, 8,2.

。 Dans chacune des séries de tubes on ensemence les trois races R. I, R. II, R. III, utilisées dans nos expériences précédentes.

A aucun pH la moindre culture ne se révèle. Ces milieux ne sont cependant pas antiseptiques puisqu'ils permettent une culture normale de *B. Coli*.

EXPÉRIENCE II. — On utilise dans cette expérience un lactosérum préparé au laboratoire ainsi qu'il suit.

On emprèsure un litre de lait. On coagule à 25°. On centrifuge et on filtre sur Chardin.

Le pH spontané du lactosérum ainsi préparé est de 5,8. Une partie est ajustée à 7,6. On stérilise à 110° et on obtient une précipitation abondante. On répartit en tubes, aseptiquement, après ou sans décantation.

On ensemence ainsi avec R. I des tubes réglés au pH 7,6, d'autres au pH 5,8.

Après seize heures de culture, les différentes cultures sont examinées au microscope.

En pH 7,6 décanté, on a une culture faible à bacilles très courts, parfois réunis en petites chaînettes.

En pH 5,8 décanté, aucune trace de développement.

Après dix jours de culture à la température du laboratoire, des cultures identiques, ensemencées le même jour et dans le même lactosérum que les précédentes, montrent en lactosérum décanté un pH 6,4 au lieu de 7,6.

La culture offre un dépôt normal, de valeur moyenne à l'œil nu. A l'examen microscopique, on y rencontre de nombreuses formes bacillaires plutôt courtes et quelques chaînettes.

En lactosérum décanté de pH 7,6 le pH, au bout de dix jours, s'est abaissé à 6,5. La culture est peu riche en bacilles, ceux-ci sont des formes courtes, trapues.

En lactosérum décanté de pH 5,8 le pH est devenu 4,9. Pas trace de culture du bacille du rouget à l'examen microscopique.

EXPÉRIENCE III. — Cette expérience a pour but de rechercher la culture du bacille du rouget et de juger de son développement dans les conditions naturelles d'ensemencement du petit lait à la porcherie, c'est-à-dire en lactosérum cru *non stérilisé*.

Toutefois, le pH est réglé à 7,6 pour éliminer toute acidité empêchante.

On enseme les tubes de lactosérum fraîchement préparé (comme précédemment) avec les trois races R. I, R. II, R. III, les uns sont placés à l'étuve à 37°, les autres sont laissés à la température du laboratoire à l'abri de la lumière.

Au bout de seize heures de culture, les tubes placés à l'étuve à 37° donnent tous (I, II, III) une culture moyenne qui montre à l'examen microscopique des formes plutôt allongées du bacille du rouget et de nombreux bacilles aberrants. Les tubes laissés à la température du laboratoire (12-17°) ne montrent pas trace de culture.

Les mêmes tubes sont examinés quarante-huit heures après l'ensemencement.

Les tubes ensemencés à 37° avec R. I, R. II montrent, parmi de très nombreuses impuretés, des bacilles du rouget de forme allongée en assez grand nombre. Dans les cultures ensemencées avec R. III, on constate la présence d'impuretés microbiennes analogues, mais le bacille du rouget y est nombreux, caractérisé et ses formes sont normalement régulières.

L'aspect des cultures abandonnées à la température du laboratoire (12-17°) ensemencées avec chacune des trois races est identique à l'examen microscopique.

Très grand nombre de germes différents, beaucoup ne prenant pas le Gram, quelques streptocoques, et enfin quelques rares bacilles du rouget exceptionnellement grêles, de longueur normale, peu gramophiles et que l'on ne distingue qu'avec peine.

Il ressort de cette troisième expérience que si le bacille du rouget pousse moyennement à la température de 37°, malgré la concurrence de nombreux microbes, il n'en est pas de même à la température ordinaire où la culture est très discrète après quarante-huit heures, alors que le milieu est déjà complètement envahi par de très nombreux germes divers.

En dehors de ces expériences, nous avons relevé quelques constatations sur la variation du pH du lactosérum cru qui doivent être rapportées ici.

Différents lactosérums préparés par présurage avaient pour acidité 6,6, 5,6, 5,8, au moment de leur préparation. L'acidité croît très rapidement et tombe au-dessous de 5 (pH).

Dès la vingt-quatrième heure, quel que soit le pH initial, l'acidité s'abaisse aux environs de 5,5. Le pH, au bout de quatre jours, est inférieur à 4,4 (T. 12-17°).

Certain lactosérum mesure, après quatre jours à la température du laboratoire, un pH 4.

Tout cet ensemble de constatations montre donc qu'il faut écarter l'hypothèse de la possibilité d'une culture du bacille du rouget dans le petit lait destiné à l'alimentation des porcs.

Influence de la glycérine dans différents milieux de culture

Dans l'expérience ci-dessous nous avons comparé, quant à leur richesse, des cultures de rouget obtenues de différents milieux glycélinés ou non, à base de bouillon Martin.

L'alcalinité du bouillon initial est ajustée au pH 7,6; tous les tubes utilisés sont remplis de 10 centimètres cubes de ce bouillon. Dans certains d'entre eux on ajoute aseptiquement deux gouttes de glycérine, avec,

pour les uns, deux à trois gouttes de sérum normal de cheval, pour les autres, un petit morceau de craie.

Nous avons donc des :

Tubes de bouillon Martin ordinaire (pH 7,6).

— — — plus glycérine (pH 7,6).

— — — — — et craie (pH 7,6).

— — — — — et sérum (pH. 7,6).

Ces différents tubes sont ensemencés d'une même quantité (une goutte) d'une jeune culture de bacille du rouget souche R. II et placés à l'étuve à 37°.

Tous ces tubes sont examinés après seize heures et après quarante-huit heures d'étuve, leur réfringence est mesurée au néphélomètre à la seizième heure et à la quarante-huitième heure; leur pH est mesuré dans les mêmes conditions.

	APRÈS 16 H.			APRÈS 48 H.		
	N.	Coeff.	pH	N.	Coeff.	pH
B. simple Martin.....	4,4	9,1	7,4	10	4	7,4 (dépôt important)
B. glycérimé simple..	18,8	2,1	7,4	42	0,9	7,4 (dépôt très import.)
B. glycérimé craie....	20,7	1,9	8,4	36,8	1,08	8,2 (dépôt important)
B. glycérimé sérum...	18,3	2,1	7,4	31	1,3	7,4 (dépôt important)

Dans ce tableau, une anomalie frappe au premier abord : les chiffres désignant l'abondance des cultures sont plus faibles après quarante-huit heures qu'à la seizième heure!

Cette apparente irrégularité est due à ce que dès la quarante-huitième heure la culture présente un abondant dépôt qui fausse d'autant la mesure néphélométrique; c'est là un inconvénient de cette mesure.

Il est à remarquer également que la souche R. II donne un dépôt dans un délai plus court que R. III. Cette dernière souche nous permettra, en effet, d'effectuer des mesures néphélobométriques encore exactes à la quarante-huitième heure. Quoiqu'il en soit, les résultats à la seizième heure sont assez évidents pour se passer de confirmation après quarante-huit heures.

Comparons d'abord le chiffre moyen (coefficient) obtenu par les différents milieux glycélinés (2) avec le chiffre que donne le bouillon Martin (9,1).

Ce dernier se révèle 4,5 fois plus favorable au bacille du rouget que les bouillons glycélinés.

Comparons maintenant les bouillons glycélinés entre eux; le bouillon glycéliné simple est très sensiblement équivalent au bouillon glycéliné additionné de sérum. Les chiffres des pH après culture confirment cette appréciation, puisqu'ils sont égaux.

Le bouillon glycéliné craie se montre inférieur aux précédents; son pH élevé 8,4 (dû à la craie) ne permet pas de penser que l'action retardatrice de la glycérine est due uniquement à son acidité.

De cette expérience nous avons conclu à l'influence manifestement néfaste de la glycérine sur le développement du bacille du rouget en bouillon Martin, et nous n'avons pas insisté sur de tels essais.

Influence du sérum normal de cheval sur la culture du bacille du rouget dans divers milieux

EXPÉRIENCE I. — On utilise dans cette expérience du bouillon Martin additionné de glucose à raison de 2 p. 1.000.

On expérimente différents pH : 5,8, 6,9, 7,6, 8,4, comparativement sans sérum et avec sérum. On ajoute asep-

liquement environ 0,5 centimètre cube de sérum inactif, dans chaque tube.

Ces tubes sont ensemencés avec nos souches R. I, R. II, R. III. Les cultures sont mises à l'étuve à 37°. Elles sont examinées et appréciées à l'œil à la quinzième heure; enfin, après quarante-huit heures, on opère leur évaluation néphélométrique et on mesure leur pH final.

L'estimation à l'œil est faite en notant 10 une culture médiocre, 20 une bonne culture normale; les autres sont notées par comparaison.

1° pH 5,8 :

	A l'œil 15 ^e heure —	48 ^e heure au néphélo Mes. Coeff. —	pH. après culture —
<i>B. glucosé 2 pour 1.000 :</i>			
Sans sérum..	0	» »	5,8
<i>Ensemencé avec R. I. :</i>			
Avec sérum..	10	15,6 2,56	5,6

La culture sans sérum est apparemment nulle, ce qui est la règle générale au pH 5,8 et au-dessous; le pH n'a d'ailleurs pas varié. La culture avec sérum, qui au néphélomètre donne une chiffre moyen, a cependant très peu abaissé le pH, ce qui paraît contradictoire à première vue. Examinée au microscope, cette culture se révèle agglutinée et il y a lieu de penser que le chiffre obtenu au néphélomètre est faussé par une plus grande réfringence du milieu agglutiné.

2° pH 6,9 :

	A l'œil à la 15 ^e heure —	A la 48 ^e heure au néphélo Mes. Coeff. —	pH. après culture —
<i>B. glucosé 2 pour 1.000 :</i>			
Sans sérum..	15	16,8 2,38	5,6
<i>Ensemencé avec R. III :</i>			
Avec sérum..	45	11,6 3,44	5,4

Nette supériorité du bouillon additionné de sérum, le rapport $\frac{\text{sérum}}{\text{sans sérum}} = 1,44$, supériorité confirmée par

la comparaison des pH après culture, puisque l'augmentation d'acidité est sensiblement proportionnelle au développement microbien et que le pH du milieu avec sérum est de 5,4 contre 5,6 pour le milieu sans sérum.

3° pH 7,6 :

A l'œil à la 15 ^e heure	A la 48 ^e heure au néphélo- Mes.	Coeff.	pH. après culture
—	—	—	—

B. glucosé 2 pour 1.000 :

Ensemencé avec R. I. :

Sans sérum..	20	17,1	2,34	6
Avec sérum..	60	9	4,44	5,8

Ensemencé avec R. II :

Sans sérum..	15	19,81	2,02	6
Avec sérum..	60	7,8	5,12	5,6

Ensemencé avec R. III :

Sans sérum..	20	15,9	2,51	6
Avec sérum..	55	6	6,66	5,8

En ce qui concerne la souche R. I, le milieu avec sérum donne une culture environ deux fois plus riche que le milieu sans sérum.

Pour la souche R. II, le sérum permet une culture 2,5 fois plus riche que le milieu sans sérum.

Pour la souche R. III, la culture obtenue avec le milieu additionné de sérum est également double de celle obtenue dans le milieu sans sérum.

4° pH 8,4 :

A l'œil à la 15° heure	48° heure au néphélo Mes.	Coeff.	pH. après culture
—	—	—	—

B. glucosé 2 pour 1.000 :

Ensemencé avec R. II :

Sans sérum..	20	15,9	2,51	6
Avec sérum..	60	6	6,66	5,4

Au pH 8,4 mêmes résultats : la culture obtenue grâce à l'addition de sérum se révèle 2,6 fois plus riche que celle obtenue en milieu glucosé 2 p. 1.000 simple.

Cette culture est d'ailleurs équivalente à celle obtenue au pH 7,6.

CONCLUSIONS. — L'addition de sérum aux bouillons permet une culture médiocre au pH 5,8, en granulations agglutinées, il est vrai; mais normalement gramophiles et en chaînes régulièrement parfaites. C'est, au cours de nos expériences, le seul milieu parmi ceux que nous avons étudiés, qui ait présenté la faculté de donner une culture régulière du bacille du rouget à un pH aussi peu élevé.

En bouillon de pH initial 6,9, l'addition de sérum permet une culture supérieure (1,14 fois plus) à celle obtenue en bouillon glucosé 2 p. 1.000 ordinaire et permet au bacille de se développer jusqu'à un pH de 5,2, au lieu de 5,6, en bouillon glucosé simple.

Au pH initial de 7,6, elle permet une culture de 2 à 2,5 fois plus riche, que ce soit pour les souches R. I, R. II ou R. III. Il en est de même au pH nettement alcalin de 8,4.

L'addition de sérum augmente donc les possibilités de culture du bacille du rouget par rapport au pH, aussi bien dans le sens de l'acidité que dans celui de l'alcalinité. Elle permet également à la culture de prolonger

son activité jusqu'à un pH inférieur à celui où elle s'arrête habituellement dans les milieux sans sérum (5,2 au lieu de 5,4 ou 5,6).

Ceci nous amène à penser que le sérum joue ici le rôle de solution tampon.

Au pH 7,6, qui nous a semblé, au cours d'autres expériences exposées ici, le plus favorable au développement du rouget, le sérum ajoute encore au rendement de la culture. On ne peut faire intervenir là un « effet tampon », puisque nous opérons au pH optimum. On est donc en droit de penser que le sérum améliore en outre la qualité nutritive du milieu.

Recherche du pH optimum des milieux de culture

On sait que les limites extrêmes d'acidité et d'alcalinité de la végétation microbienne et la valeur optimum du pH varient avec l'espèce considérée et les constituants du milieu.

Dernby divise à ce titre les bactéries en deux grands groupes :

1° Les bactéries susceptibles de supporter de larges variations de la concentration en ions H telles que : *B. subtilis*, *B. paratyphiques*, A et B, *B. Coli*, bactérie charbonneuse, *B. tuberculeux* et de très nombreuses espèces anaérobies;

2° Les bactéries sensibles qui ne tolèrent que d'étroites variations : *B. typhique*, *B. de Pfeiffer*, pneumocoque, vibrion cholérique.

Entre les limites de croissance, définies pour chaque espèce microbienne, il est un optimum précis pour la concentration ionique. Cet optimum varie suivant l'espèce microbienne et aussi suivant telle ou telle propriété physiologique de l'espèce bactérienne considérée, rapidité ou abondance de la culture, vitalité et survie, production de pigments, de diastases, de toxine, virulence. Enfin, d'une manière assez générale, le pH optimum est inférieur à 7 pour *B. Coli*, bacille paratyphique A, voisin de 7 pour bacille typhique, bacille tuberculeux, bacille paratyphique, bacille dysentérique, bacille pesteux et les anaérobies des plaies; supérieur à 7 enfin pour le gonocoque, méningocoque, vibrion cholérique, bactérie charbonneuse et pneumocoque.

Il y a près de trois ans, alors que nous abordions cette

étude, elle n'avait point encore été approfondie pour le bacille du rouget.

Depuis cette époque, divers auteurs ont précisé la valeur de pH pour ce germe.

C'est ainsi que Kettlitz, puis Koves constatent qu'un bouillon de viande peptoné à 2 p. 100, ajusté à un pH de 7,8, représente un excellent milieu pour la culture du bacille. Les valeurs établies d'autre part corroborent ces observations.

Nous avons, pour notre part, approfondi une étude semblable en nous efforçant d'y apporter le plus de précision possible et nous avons cherché à déterminer les limites extrêmes du pH permettant encore la végétation du bacille du rouget, puis l'optimum de la concentration ionique favorisant à son maximum le développement microbien. Nos essais ont porté sur trois souches de bacille de rouget, essentiellement distinctes quant à leur origine. L'une, provenant d'un cas exceptionnellement grave, observé chez le porcelet; l'autre d'une forme à évolution rapide chez l'adulte; la troisième, enfin, était représentée par une souche entretenue depuis très longtemps au laboratoire sans passage par l'animal.

Nos expériences ont été pratiquées non seulement en bouillon de viande peptoné, mais dans des milieux divers, constitués par addition à celui-ci de différentes substances, telles que sucres, sérum sanguin, glycérine.

Nous avons également opéré avec du bouillon de foie, du lactosérum, etc...

Dans certains cas, enfin, nous avons examiné conjointement l'influence de la saturation par du carbonate de chaux, des acides produits dans la culture, et nous avons recherché comparativement aussi quel pouvait être l'optimum de la concentration en *ions H* dans les divers milieux utilisés, soit en aérobie, soit en anaérobie.

L'appréciation de la richesse des cultures a été poursuivie le plus souvent à l'aide du néphélomètre de Baudouin et Bénard.

La mesure néphélométrique est faite de la façon suivante :

Dans un des tubes, que l'on gardera comme témoin au cours de toute la mesure, est placé le milieu de culture vierge identique à celui de la culture à étudier. On place ce tube au moyen de la vis micrométrique, à une graduation choisie arbitrairement (30 dans cette expérience). Dans l'autre tube on place les cultures à mesurer et on le déplace grâce à sa vis micrométrique jusqu'à obtenir l'égalité d'éclairement des deux plages observées à l'oculaire. On lit alors la graduation correspondante.

Dans cette expérience, le tube étalon, au lieu d'être rempli du milieu de culture vierge, trop peu réfringent, a été rempli avec le tube R. I, pH 8,4 choisi comme terme de comparaison.

On remarquera, dans les tableaux que nous donnons, que le néphélomètre fournit des chiffres décroissants dans le sens où la culture va croissant, c'est-à-dire que plus la culture est riche, plus le chiffre obtenu est bas. Pour pallier à cet inconvénient, nous avons établi un coefficient tel que sa valeur soit proportionnelle à la valeur réelle de la culture et de même sens qu'elle. Pour ce faire, nous avons supposé la graduation 40 (la plus élevée du néphélomètre) égale à 1, d'où nous avons tiré en divisant 40 par le chiffre obtenu devant chaque culture des coefficients croissants avec la valeur de celle-ci.

40	40	40
— = 1,33	— = 2	— = 8, etc...
30	20	5

La même méthode a été employée dans toutes les mesures néphélométriques dont le présent travail a fait l'objet.

Bouillon Martin ordinaire

EXPÉRIENCE I. — Cette expérience porte uniquement sur un même bouillon Martin ordinaire. On fait quatre séries de tubes dont le pH est ajusté respectivement à 5,8, 6,9, 7,6, 8,4. Dans chaque série de tubes, nous ensemençons quelques tubes avec chacune des trois souches R. I, R. II, R. III.

Ces souches sont rajeunies depuis peu de temps. Les tubes ensemencés sont placés à l'étuve à 37°. Ils sont examinés à la seizième heure, à la quarante-huitième heure et après soixante-douze heures. Ils sont notés en évaluant à « 10 » une culture médiocre, à « 20 » une bonne culture, les autres étant notées par comparaison. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

16 HEURES				48 HEURES			72 HEURES		
	R. I	R. II	R. III	R. I	R. II	R. III	R. I	R. II	R. III
	—	—	—	—	—	—	—	—	—
pH.. { 5,8.....	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6,9.....	15	15	13	18	22	23	18	22	23
7,6.....	15	15	17	15	16	23	19	18	23
8,4.....	10	15	16	10	15	16	10	15	19

Premier résultat évident : le bacille du rouget ne se développe pas en bouillon Martin au pH 5,8.

Le pH 8,4 se révèle inférieur à 6,9 et 7,6, surtout en ce qui concerne R. I.

Pour R. I, après seize heures, pas de différence entre les milieux 6,9 et 7,6, léger avantage pour 6,9 après quarante-huit heures, résultat qui se trouve d'ailleurs inversé, de peu il est vrai, à la soixante-douzième heure.

Nous concluons donc à l'équivalence de 6,9 et 7,6 en ce qui concerne R. I.

Pour R. II, équivalence entre 6,9 et 7,6 à la seizième heure, prépondérance de 6,9 après quarante-huit heures et encore à soixante-douze heures. Préférence de 6,9 pour R. II.

Pour R. III, supériorité de 7,6 à la seizième heure, équivalence ensuite à la quarante-huitième heure et soixante-douzième heure entre 6,9 et 7,6.

En résumé : pas de culture possible en bouillon Martin à pH 5,8, les pH 6,9 et 7,6 se montrant équivalents dans l'ensemble et donnant de bonnes cultures. Le pH 8,4 se révèle nettement défavorable.

EXPÉRIENCE II. — Dans l'expérience précédente, une certaine approximation doit être accordée aux chiffres obtenus puisqu'ils ont été appréciés à l'œil. Nous avons, dans celle-ci, eu recours au néphélomètre pour mesurer la richesse des cultures. Nous avons, de plus, mesure le pH après culture, ce qui peut donner d'utiles indications sur l'abondance de celle-ci.

L'expérience est identique à la précédente, on utilise le même bouillon Martin dont le pH est ajusté aux valeurs 5,8, 6,9, 7,6, 8,4. Dans chaque catégorie on fait trois séries de tubesensemencées respectivement avec les souches R. I, R. II, R. III.

Les cultures ont été appréciées après quarante-huit heures de séjour à l'étuve à 37°, et une longue agitation pour créer un milieu homogène.

	Néphélomètre	Coefficient	pH ap. cult.
1° R. I :			
pH initial. 5,8..	> 40	0	5,8
6,9..	16	2,5	6,9
7,6..	17	2,35	7,4
8,4..	30	1,33	7,8

		Néphélomètre	Coefficient	pH ap. cult.
2° R. II :				
pH initial.	5,8..	> 40	0	5,8
	6,9..	20,4	1,96	6
	7,6..	18,3	2,18	7,2
	8,4..	21,7	1,84	7,7
3° R. III :				
pH initial.	5,8..	> 40	0	5,8
	6,9.....	24	1,66	6
	7,6..	26	1,53	7,5
	8,1..	30	1,33	8

Ici, comme dans la première expérience, aucun développement au pH 5,8.

La race R. I se comporte mieux au pH 6,9 qu'à 7,6, de même R. III. Pour R. II, au contraire, pH 7,6 l'emporte; 8,4 est inférieur à 6,9 et à 7,6.

CONCLUSIONS. — De ces deux expériences avec le bouillon Martin, nous concluons donc :

1° A l'impossibilité d'une culture au pH 5,8.

2° A l'équivalence d'ensemble entre 6,9 et 7,6. Mais nous devons remarquer qu'au pH 6,9 l'acidité de la culture dès quarante-huit heures est déjà voisine d'un pH 6, pour atteindre rapidement une valeur égale à 5,8, qui est dysgénésique, comme nous venons de le constater.

Au pH 7,6, au contraire, la réaction de la culture après quarante-huit heures est encore aux environs de 7,2 à 7,5. Ceci nous fera préférer 7,6 dans toutes les cultures en bouillon Martin dont l'utilisation sera prolongée au delà de quarante-huit heures.

3° Le pH 8,4 représente une concentration ionique trop peu favorable au bon départ de la culture. Cet inconvénient se corrige après soixante-douze heures de culture.

Bouillon Martin glucosé à 2 p. 1.000

EXPÉRIENCE III. — On utilise dans cette expérience toujours ce même bouillon Martin ordinaire auquel on ajoute, au moment de l'ensemencement, 2 p. 1.000 d'une solution saturée de glucose. On fait trois séries de tubes ensemencées respectivement avec les races R. I, R. II, R. III, d'une seule goutte d'une jeune culture (20 heures).

Dans chaque série nous avons des milieux de culture ajustés aux pH 5,8, 6,9, 7,6, 8,4.

Les tubes sont placés à l'étuve à 37° et sont examinés au néphélomètre après quarante-huit heures de culture et après avoir été longuement agités.

La mesure néphélométrique est effectuée comme dans l'essai II, calcul d'un coefficient et mesure de pH après culture.

		Néphélomètre	Coefficient	pH ap. cult.
RACE I :				
pH initial.	5,8....	> 40	0	5,8
	6,9....	13,6	2,94	5,4
	7,6....	15	2,66	6,8
	8,4....	13,4	2,98	6,8
RACE II :				
pH initial.	5,8....	40	1	5,8
	6,9....	11,5	2,75	5,7
	7,6....	11,7	3,41	6,8
	8,4....	12,5	3,20	6,8
RACE III :				
pH initial.	5,8....	> 40	0	5,8
	6,9....	40	1	6
	7,6....	18,6	2,15	6,8
	8,4....	40	1	6,8

Au pH 5,8, aucun développement microbien dans les races R. I et R. III. Avec R. II on observe dans un tube un faible début de culture à la quarante-huitième heure. L'examen microscopique de cette culture révèle de longues formes bacillaires filamenteuses, ce qui montre bien que le milieu est encore peu favorable.

Pour R. I, le pH 8,4 équivaut à peu près au pH 6,9 et 7,6, dans l'ordre, les trois donnant de bonnes cultures.

Pour R. III, les cultures obtenues au pH 7,6 sont plus que doubles de celles obtenues aux pH 6,9 et 8,4 (qui sont équivalentes entre elles).

Nous concluons en désignant 7,6 comme le meilleur pH en milieu glucosé 2 p. 1.000 et en remarquant que ce milieu peut exceptionnellement conduire à l'obtention d'une très faible culture au pH 5,8.

Bouillon Martin glucosé à 2 p. 1.000 et sérum en aérobiose

EXPÉRIENCE IV. — On utilise dans cette expérience le même bouillon glucosé que dans l'expérience III, auquel on ajoute aseptiquement 0 centimètre cube 1 de sérum normal de cheval par tube de culture contenant environ 10 centimètres cubes de milieu.

On expérimente la même série de pH : 5,8, 6,9, 7,6, 8,4. Lesensemencements sont faits avec les trois souches R. I, R. II, R. III. Les cultures sont appréciées au néphélomètre à la quarante-huitième heure (étuve 37°).

Voici les notes moyennes des trois races pour chaque pH envisagé :

	Néphélomètre	Coefficient	pH ap. 48 heures
pH 5,8.....	15,6	2,66	5,6
6,9.....	11,6	3,44	5,4
7,6.....	6	6,66	5,4
8,4.....	6	<u>6,66</u>	5,4

Il est remarquable de constater au pH 5,8 une bonne culture moyenne, ce qui montre que l'addition de sérum étend les limites de végétation du bacille du rouget. Les pH 7,6 et 8,4 sont équivalents et donnent lieu à de merveilleuses cultures. L'addition du sérum, qui agit comme tampon, transforme les conditions du développement et l'on voit ainsi un pH initial 8,4 donner les mêmes résultats que l'optimum 7,6. Nous avons même pu noter l'obtention d'une culture au pH 5,8 avec ce milieu. Il est vrai que l'examen microscopique d'une telle culture montre des granulations agglutinées en chaînes régulièrement parfaites, ce qui témoigne d'une perturbation nette dans le développement microbien.

Bouillon Martin glucosé à 2 p. 1.000, sérum sous le vide

EXPÉRIENCE V. — On utilise ici le même bouillon que dans l'expérience IV. L'expérience V ayant pour but de comparer les résultats obtenus en anaérobiose avec ceux de l'aérobiose.

L'ensemencement est pratiqué avec les trois races R. I, R. II, R. III. Dès que l'ensemencement est fait les tubes sont scellés à la flamme sous le vide aussi complet que possible après deux « lavages » à l'hydrogène pour éliminer toute trace d'air appréciable.

Les cultures sont mesurées au néphélomètre après quarante-huit heures de culture à l'étuve à 37°.

Voici les notes moyennes des trois races, attribuées pour chaque pH envisagé :

	Néphélomètre	Coefficient	pH ap. culture
	—	—	—
pH 5,8.....	30	1,33	5,6
6,9.....	8,5	4,70	5,2
7,6.....	6,7	5,97	5,4
8,4.....	7	5,71	5,2

Les résultats sont de très près les mêmes que ceux obtenus par culture à l'air libre. Cependant, au pH 5,8, la culture est plus faible, et le pH 7,6 se révèle quelque peu préférable à 8,1. L'une des cultures au pH 7,6 de cet essaiensemencée avec R. I, ne nous donnait-elle pas les chiffres suivants :

R. I : pH 7,6. Néphélomètre : 5,7. Coefficient : 7,01 pH après quarante-huit heures : 5,4.

Ce coefficient 7,01 est de beaucoup le plus élevé qu'il nous ait été donné d'enregistrer au cours de toutes nos expériences.

Milieux de cultures divers additionnés de craie

Dans des expériences consignées par ailleurs, nous avons étudié l'influence du carbonate de chaux sur le développement du bacille du rouget dans les divers milieux de culture.

Nous avons constaté que quel que soit le milieu considéré : bouillon peptoné, glucosé, lactosé, glyciné, sérum..., la présence de craie est en somme néfaste.

Dans ces essais, les pH des divers milieux essayés, mesurés après quarante-huit heures de culture à 37° sont encore voisins de 8 ou supérieurs à cette valeur. C'est sans doute là la raison de la pauvreté des cultures obtenues.

En effet, nous avons vu dans les expériences I, II, III, IV de ce chapitre, que le pH 8,4 donne en général d'assez bons résultats, comparables même, dans certains cas, à ceux obtenus en milieu de pH 7,6. Mais dans ces cas on note que le pH au bout de quarante-huit heures avoisine 6,8, 6, et même quelquefois 5,4.

C'est dire qu'en peu de temps (au bout d'une douzaine d'heures) sa valeur se rapproche de 7,6 et qu'alors la

culture se développe bien. Il n'en est plus de même en présence de carbonate de chaux, la saturation qu'il provoque maintenant le pH aux environs de 8. Ceci nous conduit à écrire qu'en valeur absolue le pH 8,4 est défavorable au bacille du rouget. Nous devons dire cependant que nous n'avons pas constaté au microscope de modifications morphologiques appréciables dans de nombreuses préparations des souches R. I et R. II, ayant cultivé en milieu glucosé ou non, au départ pH 8,4 malgré l'addition de carbonate de chaux.

De toutes les expériences rapportées plus haut, nous dégageons les conclusions d'ensemble suivantes :

Au pH 5,8, il n'est de culture possible que grâce au rôle de « solution tampon » joué par le sérum, effet tampon que nous montrons dans une autre série d'expériences.

Le pH 8,4 permet une culture moyenne du bacille du rouget, dont le départ est laborieux cependant et dont la valeur finale n'est bonne que parce que la prolifération bacillaire, lente au début, conduit à l'abaissement du pH aux environs de 7,5.

Le pH 7,6 doit être considéré comme le pH moyen le plus favorable à la culture du rouget dans les divers milieux aérobies ou anaérobies.

Si dans la préparation des milieux de culture on entend éviter la mesure, si facile cependant, du pH, il vaudra mieux exagérer l'alcalinité du milieu, que s'en tenir à une stricte neutralisation.

Au cours de nos essais il nous a été loisible de constater combien en somme, le bacille du rouget est peu exigeant en matière de concentration ionique.

En effet, au pH 8,4 on obtient toujours une culture de valeur au moins *moyenne*. Le pH 5,8 permet lui-même, sous certaines conditions, une culture médiocre. Il y a entre ces deux chiffres un écart considérable, et il faut encore noter que 8,4 ne représente pas le maximum

d'alcalinité dont s'accommode le bacille du rouget, maximum qui doit être voisin de 9.

Il semble donc logique de classer le bacille du rouget à côté de ceux qui, comme *B. Coli* et la bactérie charbonneuse, supportent les plus amples variations dans la concentration ionique de leurs milieux de culture, c'est-à-dire dans le second groupe de bactéries, établi par Dernby.

Influence de l'Anaerobiose sur le bacille du Rouget

Le bacille du rouget est considéré par tous les auteurs comme un microbe indifférent, à la fois aérobie et anaérobie, mais qui cultiverait cependant mieux en l'absence d'oxygène non combiné.

Sans entrer dans de plus longs détails, les divers traités ou manuels français de bactériologie ou de pathologie microbienne se bornent à indiquer que le bacille de Pasteur et Thuillier est à la fois aérobie et anaérobie. Pour certains il cultive de préférence cependant en l'absence de l'oxygène; pour d'autres, cette dernière particularité n'est même pas considérée.

Dans le fascicule 22 du tome VI de la troisième édition du *Manuel des Microorganismes pathogènes*, W. Kolle, R. Kraus, P. Uhlenhuth, H. Von Preisz, de Budapest, chargé de l'étude du rouget, écrit : « Le bacille du rouget appartient à la catégorie des microbes qui poussent en vie aérobie, mais qui poussent mieux en vie anaérobie. » L'auteur n'insiste pas davantage sur ce point, mais ajoute ultérieurement, à l'occasion de la culture du microbe en gélatine : « Il paraît que la présence ou le manque de l'oxygène de l'air n'ont aucune influence sur le développement. »

Le but de notre étude est de vérifier ces constatations et, si possible, de donner une mesure exacte de l'avantage qu'accordent divers chercheurs à la culture anaérobie du bacille du rouget.

Nous avons, dans les expériences dont l'exposé suit, essayé divers milieux de culture particulièrement favorables au bacille du rouget, comparativement à l'air

libre et à l'abri d'oxygène, en ayant soin de maintenir égales toutes les autres conditions culturales.

Nos expériences ont toutes été réalisées avec les trois souches de rouget dont nous disposions, désignées R. I, R. II, R. III.

Les milieux utilisés sont le bouillon de foie, si favorable généralement aux anaérobies, le bouillon peptoné Martin, et le bouillon Martin glucosé à 2 p. 1.000, additionné de sérum normal de cheval qui s'était montré dans nos précédentes expériences comme un excellent milieu de culture pour le bacille du rouget.

L'anaérobiose a été réalisée, tantôt grâce à la culture sous huile de vaseline, tantôt par une culture en tube scellé, sous le vide aussi complet que possible.

Pour assurer plus efficacement l'élimination de l'air, nous avons eu recours à des rinçages à l'hydrogène, alternés avec l'action du vide, à deux reprises.

Les cultures dont l'ensemencement est réalisé à raison d'une goutte de semence pour chaque tube, sont placées à l'étuve à 37°. Elles sont examinées, soit dès la seizième heure, soit à la trentième heure et après quarante-huit heures, toutes ensemble. Appréciables à l'œil, ou mieux, notées au néphélomètre, avec attribution d'un coefficient, comme nous l'avons fait pour l'étude du pH optimum. On mesure ensuite leur pH après quarante-huit heures de culture.

Ces quelques données générales étant posées, voici le détail des expériences poursuivies.

Bouillon de foie sous huile et à l'air libre

EXPÉRIENCE I. — Onensemence les trois races de rouget utilisées dans les précédentes expériences, d'une part, en bouillon de foie sous huile, d'autre part, dans le même bouillon foie à l'air libre. Le pH du milieu est

égal à 7,6. Les résultats sont interprétés au néphélomètre après quarante-huit heures de culture à 37°.

Les cultures aérobies et anaérobies sont comparées successivement à un même étalon de bouillon foie vierge dont la valeur est arbitrairement fixée à 30.

	Néphélo	Coefficient sur 40
RACE I :		
Aérobic.	10	4
Anaérobic.	14,6	2,74 (a > ana)
RACE II :		
Aérobic.	12	3,33 (a > ana)
Anaérobic.	20,5	1,95
RACE III :		
Aérobic.	12	3,33 (a > ana)
Anaérobic.	15	2,66

Somme des coefficients : *Aérobies* : 10,66. — *Anaérobies* : 7,35.

Dans cette expérience, la richesse de la culture aérobie est donc supérieure à celle du milieu anaérobic : pour la Race I de très peu; pour R. II dans le rapport de 2 à 1; pour R. III dans le rapport de 3 à 2.

Ces résultats sont confirmés par la totalisation des coefficients pour chaque sorte de culture, la valeur obtenue étant plus élevée avec les cultures aérobies.

EXPÉRIENCE II. — On enseme les trois races en vieux bouillon de foie entretenu sous huile, non régénéré, comparativement en tubes sous huile et en d'autres, à l'air, aseptiquement transvasés. Le pH = 7.

Après trente heures, à l'étuve à 37°, l'examen à l'œil nu montre une nette supériorité des cultures aérobies.

L'examen au néphélomètres après quarante-huit heures de culture à 37° donne les résultats suivants :

R. I :		
Aérobic.	12,2	3,27 (a > ana)
Anaérobic.	14,4	2,78
R. II :		
Aérobic.	13,4	2,98 (a > ana)
Anaérobic.	21,8	1,83
R. III :		
Aérobic.	15,7	2,54 (a < ana)
Anaérobic.	12,4	3,22

Dans cette expérience la culture aérobie est meilleure pour les races I et II respectivement dans les rapports de 6 à 5 et de 3 à 2.

La culture anaérobic, au contraire, est supérieure dans le cas de la Race III; rapport de 4 à 3.

Si nous établissons la somme des coefficients obtenus par les cultures aérobies, d'une part, et les cultures anaérobies, d'autre part, nous obtenons respectivement les chiffres suivants : a. 8,79, ana. 7,83, qui traduisent bien le meilleur résultat obtenu par les cultures à l'air libre.

EXPÉRIENCE III. — On enseme les trois races, d'une part en bouillon glucosé de 2 p. 1.000, additionné de sérum, à l'air; d'autre part, en même bouillon sous le vide obtenu en tubes scellés après deux lavages. Le pH est de 7,6.

De plus, la même expérience est faite :

Au pH 5,8 avec R. I.

Au pH 6,9 avec R. III.

Au pH 8,4 avec R. II.

1° En ce qui concerne le bouillon de pH 7,6, on relève au néphélomètre, après quarante-huit heures :

		Coefficient	pH ap. culture
R. I	aérobie	9	4,41
	anaérobie ..	5,7	7,01
R. II	aérobie	7,8	5,12
	anaérobie ..	7,3	5,48
R. III	aérobie	6	6,66
	anaérobie ..	6,7	5,97

2° En bouillon de pH 5,8 glucosé 2 p. 1.000, plus sérum :

		Coefficient	pH ap. culture
R. I	aérobie	15,6	2,56
	anaérobie ..	30	1,33

3° En bouillon de pH 8,4 glucosé à 2 p. 1.000, plus sérum :

R. II	aérobie	6	6,66
	anaérobie ..	7	5,71

4° En bouillon de pH 6,9 glucosé 2 p. 1.000, plus sérum :

R. III	aérobie	11,6	3,44
	anaérobie .	8,5	4,70

Donc, en pH 7,6, la culture à l'air est meilleure seulement pour R. III, déficiente pour R. I, équivalente à celle de l'anaérobiose pour R. II. Les pH, après culture, sont, pour les trois races, plus bas dans le cas de la culture anaérobiose, ce qui tend à montrer que la culture a été plus active que dans l'aérobiose.

En pH 5,8, l'aérobiose est préférable au vide pour R. I (contrairement à ce qui se passe en pH 7,6).

En pH 6,9, l'aérobiose est nettement inférieur au vide (rapport de 3 à 4) pour R. III (contraire en pH 7,6).

En pH 8,4, l'aérobiose est supérieur au vide (rapport 6 à 5) pour R. II.

En résumé, au pH 7,6, la culture anaérobie est meilleure; mais avec les autres pH, les résultats sont contradictoires pour une même race. La somme des coefficients néphélométriques obtenus pour les cultures aérobies d'une part, anaérobies d'autre part, nous donne les chiffres suivants : a., 15,19, ana., 18,46, pour le pH 7,6. Ces chiffres démontrent la nette supériorité de la culture anaérobie au pH 7,6 avec le milieu glucosé-sérum.

EXPÉRIENCE IV. — Le milieu de culture utilisé est un bouillon peptoné de pH 7,6.

On ensemence les trois races, deux tubes à l'air, deux tubes sous le vide complet (en tubes scellés pour chacune des races).

L'état des cultures est apprécié à l'œil à la quarante-deuxième heure et à la soixante-cinquième heure.

On mesure le pH alors que la culture est terminée.

		42 ^e HEURE		70 ^e HEURE		pH final
		1 ^{er} tube	2 ^e tube	1 ^{er} tube	2 ^e tube	
R. I	air ...	20	20	20	20	7
	ana ...	20	18	20	18	6,9
R. II	air ...	20	20	20	20	7
	ana ...	20	20	20	20	6,8
R. III	air ...	18	18	18	18	7,1
	ana ...	18	18	20	20	6,8

Dans cette expérience, les très petites différences relevées dans l'aspect des cultures à l'œil nu ne permettent pas de porter un jugement précis.

Remarquons toutefois que, comme dans l'expérience III, les pH, après culture, sont un peu plus bas

dans le cas des cultures anaérobies, ce qui tend à montrer que la culture a été plus active sous cette condition.

A l'examen microscopique, toutes les cultures présentent des formes régulières normales, sauf R. I en milieu anaérobie, qui présente quelques formes longues, ce qui est le fait d'un milieu légèrement dysgénésique.

EXPÉRIENCE V. — On ensemente les trois races : R. I, R. II, R. III, en bouillon de foie de pH 7,4, à l'air et sous huile. Les cultures sont examinées au néphélomètre à la vingtième heure de culture (étuve à 37°).

	Anaérobie		Aérobie		pH après culture	
	—		—		—	
R. I ..	15,5	2,57	12,4	3,2	ana. 6,6	aér. 6,4
R. II ..	23,8	1,6	11	3,63	— 6,6	—
R. III ..	16	2,5	10,5	3,8	— 6,8	— 6,8

En établissant la somme des coefficients ainsi que nous l'avons fait pour les expériences précédentes, on obtient les chiffres suivants :

10,63 pour le milieu aérobie; 6,67 pour le milieu anaérobie, ce qui montre l'évidente supériorité du milieu aérobie au cours de cet essai.

Le bouillon de foie était ici fraîchement préparé.

On remarque la très nette supériorité de la culture aérobie particulièrement en ce qui concerne la race II.

Ces mêmes cultures sont examinées au microscope à la soixante-dixième heure.

En culture aérobie R. I, R. II, R. III sont identiques, de formes régulières plutôt courtes.

En culture anaérobie :

R. I donne des formes normales plutôt longues.

R. II des formes entortillées très longues, dépassant le champ de l'objectif.

R. III des formes entortillées extrêmement longues,

plus grandes que trois à quatre fois le diamètre du champ.

Dans cette expérience, la culture aérobie est donc plus abondante et très nettement supérieure aussi, en ce sens que la culture anaérobie provoque des formes dysgénésiques.

Les pH, après culture, sont comparables entre eux et, à les considérer seuls, on n'aurait pu conclure.

CONCLUSIONS. — 1° *Cultures en bouillon foie*. — Pour les races I et II, l'anaérobiose est déficiente dans tous les cas : expériences I, II et V.

Pour la race III, l'anaérobiose, déficiente dans tous les autres cas, se montre préférable dans un seul cas, au cours de l'expérience V.

Nous concluons donc à la supériorité des cultures à l'air libre en bouillon de foie de pH 7,6 à 37°.

2° *Cultures en bouillon Martin glucosé 2 p. 1.000-sérum*. — Nous ne retiendrons ici, à titre comparatif, que les résultats obtenus au pH 7,6. Nous dirons qu'au pH optimum, le bacille du rouget se comporte mieux à l'abri de l'air en bouillon glucosé sérum. L'exception relevée pour R. III ne marque, en effet, qu'un léger avantage pour la culture à l'air libre dont il n'y a pas lieu de tenir compte dans le résultat d'ensemble. La somme des coefficients néphélométriques confirme cette interprétation.

3° *Cultures en bouillon Martin ordinaire*. — Les cultures sont équivalentes dans les deux cas pour les trois races. Les pH, après culture, se révèlent plus bas pour les cultures anaérobies, ce qui tend à montrer que la culture y a été plus active.

EN RÉSUMÉ. — En bouillon Martin ordinaire, le bacille du rouget est indifférent; en bouillon Martin glucosé 2 p. 1.000 additionné de sérum, il est favorisé par l'anaé-

robiose. Il est, au contraire, considérablement gêné par l'absence d'air si on le cultive en bouillon foie.

Ceci nous autorise à écrire que si l'on peut considérer que le bacille du rougèt est un microbe à la fois aérobie et anaérobie, on n'est pas en droit de dire qu'il cultive mieux, d'une manière générale, en l'absence d'oxygène libre.

Bacille du Rouget et antagonisme microbien

La clinique nous enseigne que, très fréquemment, diverses infections de l'espèce porcine s'associent au cours d'une même enzootie et vont jusqu'à se superposer chez un même malade. On sait ainsi que la peste porcine, infection provoquée par un virus filtrable, se complique couramment d'évolutions infectieuses par la bactérie des septicémies hémorragiques (*Pasteurella* porcine) et la bactérie de Salmon (*Salmonellose* porcine, paratyphose). Il n'apparaît point que le rouget comporte de telles associations, ni que son évolution se superpose jamais à celle de l'une des infections précitées.

Sans doute, la condition d'âge des individus exposés à ces diverses infections intervient-elle dans l'éventualité qui nous occupe. On sait que les jeunes animaux, moins exposés aux formes septicémiques du rouget que les adultes, sont plus sensibles que ceux-ci à l'évolution des autres contagions de l'espèce porcine. Toutefois, certaines formes du rouget affectent à merveille le porc jeune et l'on peut éprouver quelque surprise à ne point en observer souvent la superposition à quelques-unes des manifestations chroniques de la pasteurellose ou de la salmonellose porcine.

Sur cet intéressant objet, les traités classiques sont muets et nous n'avons trouvé, dans nos recherches bibliographiques, qu'un seul travail, celui de Hœhne, qui y fasse allusion.

Encore l'auteur se borne-t-il à indiquer la débilité consécutive à une autre maladie parmi les diverses cau-

ses qui favorisent l'éclosion de cas sporadiques du rouget et à mentionner l'association occasionnelle de la pasteurellose et de la peste au rouget.

Pour expliquer des faits de cet ordre, il convient d'invoquer toutes notions d'épidémiologie propres à chacune des infections en cause, les conditions diverses de la réceptivité des races et des individus, les formes de l'alimentation et de l'exploitation, l'influence des saisons, celle du sol et des eaux. Nous étions, à Alfort, mal placés pour poursuivre une telle analyse.

Mais, à côté des facteurs qui viennent d'être énumérés, il n'est pas trop audacieux de faire une part à certaines influences microbiennes qui s'exercent soit au titre d'un antagonisme vrai, soit par le jeu d'une action modificatrice des aliments, qui peut en faire soit un milieu impropre au développement du bacille du rouget, soit un véritable médicament.

Sur ce dernier point, rappelons nos constatations sur l'impossibilité du développement du bacille du rouget dans des milieux de pH inférieurs à 5,8 et sur son inaptitude plus ou moins complète à pulluler dans le lactosérum. On doit, dès lors, estimer qu'un large usage dans l'alimentation porcine des résidus de laiterie, toujours acides, entrave la souillure latente du tube digestif, et l'infection larvée par le bacille du rouget. En fait, d'une enquête à laquelle nous nous sommes livré, mais que nous jugeons insuffisante pour conclure définitivement, il apparaît bien que le rouget soit rarissime dans les porcheries annexées aux industries laitières. Alimentation acide du fait de l'intervention des ferments lactiques, antagonisme microbien corrélatif semblent bien être en cause dans cette heureuse éventualité. Nous poursuivons d'ailleurs cette étude.

En attendant qu'elle s'achève, nous faisons connaître ici quelques expériences relatives à l'antagonisme du bacille de Pasteur et Thuillier et de diverses espèces

microbiennes. Déjà, Hans Falk et Meloni ont poursuivi des recherches sur cet objet. Falk cultive en même temps *B. Coli* et le bacille du rouget sans exalter la virulence de celui-ci; streptocoques et staphylocoques se montrent également indifférents. Par contre, les cultures mixtes de rouget et de divers germes tuent plus vite les souris que la culture pure du bacille de Pasteur et Thuillier. Pour Meloni, en contradiction avec Falk, la culture en symbiose du bacille spécifique avec *B. Coli* ou *B. suipestifer* atténue sa virulence. Si le bacille du rouget se développe mal lorsqu'on l'associe à divers microbes, seul le bacille d'Eberth constituerait un véritable antagoniste.

Nos recherches sur ce point se sont bornées à l'examen du cas de la *Pasteurella* et de la *Salmonella* porcines, germes répandus, comme le bacille du rouget, dans le milieu extérieur et hôtes normaux des cavités viscérales de nombreux porcs. En ce qui les touche et du point de vue qui nous occupe, ce sont là les seuls germes pathogènes dont l'action antagoniste mérite d'être étudiée.

Antagonisme bacille du rouget — *Pasteurella*.

Le milieu de culture utilisé dans les expériences que nous exposons ci-dessous est un bouillon Martin ordinaire. Le pH de ce bouillon est ajusté à la valeur 7,6 par la méthode colorimétrique.

Les souches microbiennes utilisées sont, pour le rouget, nos trois souches R. I, R. II, R. III.

La *Pasteurella* employée est isolée du porc depuis peu de temps, d'un prélèvement envoyé au laboratoire de recherches aux fins de diagnostic.

EXPÉRIENCE I. — Dans ce même bouillon de pH 7,6, on ensemence, soit à II gouttes, soit à I goutte, soit à l'état

de trace, un mélange à parties égales d'une culture de vingt-quatre heures, dans ce même bouillon, de *Pasteurella* et d'une culture de rouget des races I, II ou III.

Ces cultures sont placées à l'étuve à 37° et examinées après vingt-quatre heures.

R. I et Pasteurella. — Quelle que soit la quantitéensemencée, le rouget a cultivé seul, sans trace de *Pasteurella*.

Les formes du rouget sont du pur type classique.

R. II et Pasteurella. — Ensemencement trace : Rouget pur, de type très régulier; pas de *Pasteurella*.

Ensemencement I et II gouttes : Développement égal des deux microbes.

Les formes du bacille du rouget sont inégales et marquent une tendance à l'élongation.

R. III et Pasteurella. — Résultat identique à celui obtenu avec R. I.

Les mêmes cultures, maintenues à l'étuve à 37°, sont examinées à nouveau après quarante-huit heures d'étuve.

R. I et Pasteurella. — Ensemencement trace, I et II gouttes : Symbiose en quantités égales sans modification des types microbiens, ni dans leur forme, ni dans leur sensibilité aux colorants. Le pH est devenu 7,2.

R. II et Pasteurella. — Ensemencement trace, I et II gouttes : Symbiose en quantités égales; la *Pasteurella* est restée normale, le bacille du rouget est très étiré. Le pH est devenu 7,4.

R. III et Pasteurella. — Ensemencement trace, I et II gouttes : Symbiose réalisée, mais le rouget est plus abondant que la *Pasteurella*; il est de type normal, mais très court. Le pH est devenu 7,5.

De cette expérience, nous dégageons les faits suivants :

1° Le bacille du rouget se développe plus rapidement que la *Pasteurella*, sans pour cela entraver le développement futur de celle-ci.

2° Les deux microbes ne semblent pas se nuire, la *Pasteurella* restant toujours semblable à elle-même; seul, le rouget paraît, dans certains cas, devoir allonger ses formes. Rappelons d'ailleurs que des formes longues ont été signalées autrefois par Lorenz, qui les donne pour fréquentes dans les cultures mixtes du bacille du rouget avec d'autres bactéries.

3° En aucun cas le développement du bacille du rouget n'est entravé par la *Pasteurella*.

EXPÉRIENCE II. — Cette expérience est réalisée exactement dans les mêmes conditions que la précédente.

On ensemence dans le même bouillon, dont le pH est ajusté à 7,6, soit à II gouttes, soit à I goutte, soit à l'état de traces, un mélange en parties égales d'une culture de vingt-quatre heures, dans ce même bouillon, de *Pasteurella* et d'une culture de rouget des races I, II ou III.

De plus, sont ensemencés : des témoins de *Pasteurella* pure et des témoins de chacune des trois races de rouget utilisées.

Les cultures sont examinées après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve à 37°, appréciées à l'œil et au microscope sur des préparations colorées.

R. I et Pasteurella. — Les tubes témoins de rouget et les tubes témoins de *Pasteurella* se montrent moins riches à l'œil nu que les tubes de culture mixte, ceux-ci étant égaux entre eux en valeur.

Au microscope, la *Pasteurella* est abondante, le bacille du rouget, plus rare, est allongé. Le pH est devenu 7,2.

R. II et Pasteurella. — L'observation à l'œil nu montre les mêmes différences entre les tubes témoins et les cultures mixtes.

Au microscope, on note un développement des deux microbes, tous deux de type régulier. Le pH est devenu 7.

R. III et Pasteurella. — Résultats identiques à ceux de R. II. Le pH est devenu 6,9.

Les mêmes cultures sont examinées après un séjour de quarante-huit heures à l'étuve.

R. I et Pasteurella. — Le bacille du rouget est peu abondant, un peu allongé, et ne semble pas s'être développé d'une façon appréciable depuis vingt-quatre heures. *Pasteurella* plus abondante.

R. II et Pasteurella. — Culture très abondante avec égalité de développement des deux microbes. Le bacille du rouget marque une tendance à la chaînette.

R. III et Pasteurella. — Le bacille du rouget est régulier; la *Pasteurella*, régulière également, est plus abondante que le rouget.

Il est à remarquer que pour chaque race, I, II ou III, le résultat est le même, quelle que soit la quantité de culture avec laquelle on ait réalisé l'ensemencement.

Après soixante-douze heures de culture, le pH est mesuré dans toutes les cultures. Toutes les mesures donnent le même chiffre de 6,8, sauf pour R. III et *Pasteurella* ensemencé de II gouttes, qui donne le chiffre de 7.

Le pH semble donc devoir aboutir à une valeur uniforme de 6,8.

Cette deuxième expérience confirme la première en ce qui concerne la parfaite symbiose des deux germes.

Le rouget ne semble pas s'être développé plus tôt que la *Pasteurella*. Comme dans la première expérience, nous avons pu constater la présence de formes longues dans un cas.

EXPÉRIENCE III. — Cette expérience a pour but de rechercher comment le bacille du rouget se développe dans un milieu déjà envahi par la *Pasteurella* et, réciproquement, comment la *Pasteurella* prolifère dans une culture de bacille du rouget déjà bien développée.

On ensemeince, dans une série de tubes contenant une culture de *Pasteurella* âgée de quarante huit heures, II gouttes de culture jeune de bacille du rouget des races I, II ou III.

Parallèlement, on ensemeince à II gouttes d'une culture jeune de *Pasteurella* une série de tubes contenant des cultures de rouget des races I, II ou III âgées de vingt-quatre heures.

Tous ces tubes sont placés à l'étuve à 37°.

On pratique l'examen microscopique de ces cultures après vingt-quatre heures sur des préparations au Gram-fuchsine.

En ce qui concerne les cultures de rouget ensemen-cées sur le milieu contenant déjà la *Pasteurella*, on remarque, dans toutes les préparations, un faible développement du rouget. Le bacille se présente dans toutes les cultures avec une très nette tendance à l'élongation.

Quant à la *Pasteurella* ensemen-cée sur une culture du rouget, son développement est parfaitement normal. Au bout de vingt-quatre heures, il y a déjà égalité de nombre des germes, dont les formes restent typiques.

Il résulte de cette expérience que le bacille du rouget se développe péniblement dans un milieu envahi par la *Pasteurella* et qu'il y donne des formes longues.

L'entrave apportée par la *Pasteurella* est peut-être due uniquement à l'abaissement rapide du pH dans les cultures de la souche par nous utilisée. Sa valeur devient, en effet, voisine de 6 au bout de vingt-quatre heures de culture, pour un pH initial de 7,6. Or, nous savons que le bacille du rouget s'accommode mal, au départ de son

évolution, des pH inférieurs à 6 ou voisins de cette valeur.

Enfin, le développement de la *Pasteurella* n'est nullement entravé par le développement antérieur du rouget.

De l'ensemble de ces trois essais, il résulte que le bacille du rouget se développe bien parallèlement à la *Pasteurella*, sans avoir d'influence sur celle-ci, tout en subissant lui-même, dans certains cas, une légère modification traduite par une élongation de ses formes.

Dans un milieu envahi précédemment par la *Pasteurella*, le développement du bacille du rouget est compromis et ses formes s'en trouvent modifiées.

Il ne semble donc pas que l'on puisse invoquer, au titre du jeu d'un antagonisme microbien, la présence de *Pasteurella* dans le tube digestif du porc, encore que l'on ne soit pas complètement en droit de comparer sur un tel terrain réactions organiques et phénomènes observés *in vitro*.

Antagonisme B. du rouget — B. paratyphique.

EXPÉRIENCE I. — Dans cette expérience, le milieu de culture utilisé est un bouillon Martin ordinaire, de préparation récente, dont le pH est ajusté à 7,6 par la méthode colorimétrique.

Cette expérience a pour but de juger de l'influence réciproque des bacilles paratyphiques et du rouget au cours de leur développement parallèle dans le même milieu.

Considérant la grande rapidité de développement du paratyphique dès les premières heures de culture, nous avons, pour chercher à rétablir l'équilibre, ensemencé les tubes de culture avec un mélange de VIII gouttes de

la culture de rouget et de II gouttes de culture de paratyphique.

Les cultures qui servent à l'ensemencement sont âgées de quarante-huit heures, pour le paratyphique comme pour le rouget.

On opère avec deux souches I et II de paratyphiques d'origine porcine, provenant de prélèvements adressés au Laboratoire de Recherches. Comme souches de rouget, nous utilisons nos trois souches habituelles, R. I, R. II, R. III.

Après quinze heures de séjour à l'étuve à 37°, toutes les cultures, appréciées à l'œil nu, sont abondantes et comparables quant à leur richesse.

Le tableau suivant résume les résultats de l'examen microscopique de chaque culture, après coloration par la méthode de Gram.

R. I et Para I. — Culture en quantités égales des deux éléments, qui sont tous les deux réguliers dans leur forme.

R. I et Para II. — Mêmes constatations.

R. II et Para I. — Mêmes constatations. Toutefois, le bacille du rouget marque une légère prépondérance sur le paratyphique; les formes obtenues sont régulières.

R. II et Para II. — Prépondérance nette du paratyphique. Les formes sont normales.

R. III et Para I. — Cultures en quantités égales des deux germes, dont les formes sont typiques.

R. III et Para II. — Mêmes constatations.

En résumé : dans trois cas, les éléments ont cultivé en quantités égales; dans aucun, une prépondérance nette n'échoit au bacille du rouget; dans un autre cas, celle-ci revient, mais d'une façon peu marquée, au paratyphique.

Nous ne pouvons conclure, à la suite de cette expé-

rience, à la prépondérance régulière de l'un ou de l'autre germe; nous nous bornerons à constater leur symbiose, à ce point parfaite que les germes ne sont pas altérés et gardent leur forme la plus typique, eu égard au milieu de culture envisagé.

EXPÉRIENCE II. — Le but de cette expérience est de rechercher si le bacille du rouget se développe et, si faire se peut, sous quelles conditions, dans un milieu de culture épuisé par le paratyphique.

Le bouillon de culture utilisé est un bouillon Martin ordinaire. Placé dans un ballon de 200 centimètres cubes, ce milieu estensemencé de paratyphique I mis à l'étuve à 37°. On laisse la culture se développer jusqu'au moment où le milieu redevient limpide de lui-même. A ce moment, le milieu est décanté puis filtré sur bougie Chamberland.

Le pH du milieu est ajusté aux chiffres suivants : 5,8, 6,6, 7,4, 8.

Tous les tubes sontensemencés avec la souche de rouget R. III, puis placés à l'étuve à 37°.

Examinés à compter de la vingt-quatrième heure et durant quinze jours, ils se montrent stériles.

EXPÉRIENCE III. — On utilise une culture en bouillon peptoné d'un paratyphique d'origine porcine, culture vieille d'un mois et totalement éclaircie.

Pour essai préalable, à 40 centimètres cubes de bouillon éclairci, recueilli par décantation aseptique, on ajoute un égal volume de bouillon peptoné de pH = 8. On répartit aseptiquement en tubes à essais. On enseme avec une culture de rouget tout récemment isolée de l'organisme d'un porc. On obtient, à la dix-huitième heure, un développement du paratyphique, mais pas la moindre trace de culture du bacille du rouget.

Pour un essai plus complet, la culture achevée de paratyphique est ramenée à pH 7,5 et filtrée sur Cham-

berland. La culture filtrée est répartie aseptiquement en tubes stériles. A certains tubes, on ajoute du bouillon peptoné stérile neuf de pH 7,5, dans les proportions de 25, 50 ou 100 p. 100. Après contrôle de la stérilité de ces divers milieux, on les ensemence, en même temps que les tubes témoins, avec une jeune culture de bacille du rouget. Aucun développement microbien n'est obtenu.

Afin d'établir que les milieux stérilisés ne sont point antiseptiques, on les ensemence avec une culture jeune de *B. Coli*. Tous donnent une culture de valeur moyenne en vingt-quatre heures.

Dans l'expérience qui précède, l'échec de la culture du bacille du rouget n'est donc lié ni à la valeur antiseptique des milieux mis en œuvre, ni à l'épuisement de ceux-ci, puisque l'addition de bouillon neuf, même à volumes égaux, ne restitue en rien à la masse sa valeur culturale. C'est bien une manifestation d'antagonisme microbien que nous avons relevée.

CONCLUSIONS. — Encore que nous ne puissions tirer d'expériences aussi peu nombreuses des conclusions fermes, il apparaît donc bien que si l'antagonisme Pasteurella-bacille du rouget ne s'observe pas, l'antagonisme bacille paratyphique-bacille du rouget peut intervenir en certaines conditions.

Variations morphologiques du bacille du Rouget

Si, ainsi que l'écrivent tous les bactériologistes, le bacille du rouget se présente, dans les tissus, sous la forme d'un fin bâtonnet de dimensions analogues à celui de la tuberculose, ces dimensions, dans les cultures, varient suivant la composition et la réaction des milieux. Il a été montré, d'autre part, que dans certains tissus, le bacille du rouget affecte des formes variables.

Langrand trouve à la surface des méninges des filaments droits ou recourbés, d'une longueur de 8-12 μ . On rencontre aussi des bacilles associés par paires ou en chaînettes.

Panisset et Verge montrent la présence de fins bacilles filamenteux en amas, principalement dans les épaissements valvulaires au cours d'endocardite chronique.

Les variations, si importantes qu'elles soient, sont inférieures néanmoins à celles que l'on peut noter dans différents milieux de cultures. Le bacille, sur certains d'entre eux, peut voir son épaisseur doubler et même tripler. La longueur de la bactérie peut devenir considérable, principalement dans les milieux liquides.

Langrand obtient, sur du sérum de cheval ou de bœuf, de longs filaments recourbés ou ondulés. Dans du bouillon Martin contenant 10 p. 100 de bile (de bœuf ou de porc), Panisset et Kolda voient pousser le bacille en amas chaotiques de fils sinueux.

Avec 2,5 p. 100 seulement de bile, on n'observe pas ces variations. D'après Sabella, on obtient, en milieu additionné de saponine, des formes grossières ressem-

blant à des cocci, non agglutinables, qui peuvent redevenir normales, quoiqu'ayant perdu toute virulence pour la souris.

Lorenz avait mentionné déjà la présence de formes longues dans les cultures mixtes du bacille avec d'autres bactéries.

Enfin, Kitt signalait, des premiers, des formes longues ramifiées dans les cultures en bouillon-sérum; mais il revint ensuite sur sa première détermination, pensant à une souillure accidentelle par un streptothrix. Leclainche, qui rapporte ses observations, ajoute que la réalité des formes ramifiées n'est pas douteuse, cependant; « nous les avons, dit-il, maintes fois observées ».

Tous ces travaux montrent combien les différents milieux de culture peuvent influencer, au point de vue morphologique, le bacille du rouget.

L'objet de ce paragraphe est d'exposer succinctement les quelques constatations qu'il nous a été donné de faire, sur ce sujet, au cours de nos expériences.

Nous ne citerons ici que les formes anormales du bacille, décelées par nous, passant sous silence tous les cas où nous avons rencontré des formes bacillaires régulières, normales.

Nous examinerons successivement les divers milieux de culture pour lesquels il nous a été permis de reconnaître des variations des formes bacillaires du bacille du rouget.

1° LACTOSÉRUM. — Lactosérum préparé par présuage et qui a fait l'objet des expériences précédemment décrites, au chapitre de l'étude des divers milieux de culture.

a) *Lactosérum stérilisé 110°*. — Ces cultures, entretenues à l'étuve à 37°, présentaient, au moment où a été fait l'examen microscopique rapporté ici, un pH de 6,6

après quarante-huit heures de culture, le pH initial étant 7,6.

Le bacille se montre sous des formes courtes, associées très souvent en petites chaînettes.

b) *Lactosérum cru*. — PH initial, 7,6. Quarante-huit heures à l'étuve à 37°; seule, la race I présente des formes allongées.

2° LAIT ENTIER. — Après seize heures d'étuve à 37°, on voit des formes régulières très gramophiles; après quarante-huit heures, nette tendance aux chaînettes.

3° BOUILLON MARTIN GLUCOSÉ 2 P. 1.000 AVEC SÉRUM. — Avec un pH initial 5,8, nous avons constaté un aspect très ramassé du bacille, en granulations agglutinées bien gramophiles. Au moment de l'examen, le pH était 5,6.

4° BOUILLON MARTIN GLUCOSÉ 2 P. 1.000 ET 1 P. 1.000. — PH d'origine 7,6, formes régulières, ayant tendance à l'agglutination. Au contraire, avec le bouillon Martin glucosé 1 p. 1.000 d'un pH initial 7,6, devenu 6,4 au moment de l'examen, on note des formes longues égales au diamètre du champ, peu gramophiles et présentant une agglutination marquée.

5° BOUILLON MARTIN LACTOSÉ 2 P. 1.000 ET 1 P. 1.000. — On obtient toujours des formes longues dans ces conditions :

A 1 p. 1.000, il y a tendance à l'agglutination avec formation de chaînettes.

A 2 p. 1.000, formes toujours plus longues. Nous avons même examiné une préparation d'une culture de la souche R. III, au pH initial de 7,6, montrant des formes extrêmement longues, très entortillées, dépassant les limites du champ microscopique. En déroulant par la pensée les nombreuses circonvolutions de ces formes, on dépasse le diamètre du champ de trois ou quatre fois. Le pH, au moment de l'examen, était de 6,6.

6° CULTURES ANAÉROBIES. — Dans les cultures réalisées à l'abri de l'air, nous avons remarqué, comme avec le bouillon lactosé, la prédominance constante des formes longues.

a) *Bouillon peptoné anaérobie*. — PH initial 7,6. Une culture de R. I montre des formes longues.

b) *Bouillon de foie*. — Ce bouillon est fraîchement préparé, son pH est ajusté à 7,4.

Alors que les cultures au contact de l'air, faites grâce à ce bouillon, donnent des formes bacillaires normales plutôt courtes, les cultures à l'abri de l'air donnent des formes ou longues ou très longues.

R. I nous a donné des formes longues, R. II des formes longues entortillées plus grandes que le diamètre du champ. R. III nous montre des formes entortillées très longues, égales à quatre-cinq fois le diamètre du champ, comme celles obtenues en bouillon lactosé à 2 p. 1.000.

7° CULTURES DANS DES MACÉRATIONS DE TERRAINS DIVERS. — Nous avons relevé bien des anomalies, au cours de l'étude de la culture du bacille du rouget, dans différents terrains. Tantôt, suivant les sols, les formes bacillaires sont petites, courtes, agglutinées, tantôt elles sont longues, flexueuses, mais toujours peu gramophiles.

8° EAU PHYSIOLOGIQUE. — La culture en eau physiologique peptonée donne, d'ordinaire, des bacilles très courts agglutinés.

9° CULTURES MIXTES. — Comme différents auteurs l'avaient déjà noté, nous avons relevé, en cultures mixtes, nombre de formes en chaînettes ou filaments.

De ces quelques constatations, nous retiendrons surtout :

1° *La prédominance des formes courtes dans la cul-*

ture sur lait, en lactosérum et en eau physiologique peptonée.

De plus, dans le lait, tendance aux chaînettes.

Nous avons vu également qu'au pH 5,8, le bouillon sérum donne des formes très courtes, granuleuses, dues vraisemblablement à la faible valeur du pH, puisque nous n'avons pas constaté de formes longues, en bouillon-sérum, aux pH 6,9, 7,6 ou 8,4.

2° *La prédominance des formes longues dans les cultures anaérobies.* — Dans tous les cas, en bouillon peptoné comme en bouillon de foie.

3° *La prédominance des formes longues dans les cultures mixtes du bacille avec d'autres bactéries.*

4° *La présence de formes entortillées et très longues dans le bouillon lactosé à 2 p. 1.000.*

5° *La présence de formes généralement courtes, peu gramophiles, en milieux de culture obtenus par macération de terres.*

DEUXIÈME PARTIE

Les divers sols et la répartition géographique du Rouget

On sait que le rouget est partout répandu en Europe.

Il sévit d'ordinaire sous des formes épizootiques et parfois seulement à l'état d'enzooties limitées. La maladie atteint plus particulièrement certains pays et reste beaucoup moins sévère en d'autres.

Très fréquent en Allemagne, en France, en Belgique, en Hongrie, en Russie, le rouget est plus rarement constaté d'autre part. C'est alors qu'on l'observe sous une forme enzootique sans tendance envahissante.

Aux Etats-Unis du Nord Amérique, ces enzooties, toujours très limitées, s'éteignent sur place et la Grande-Bretagne, ignorant le rouget épizootique, n'a enregistré jamais que des foyers localisés d'un rouget bénin, sans aptitude à la diffusion.

« Mais, comme l'écrivent Nocard et Leclainche, dans leur traité des *Maladies microbiennes des animaux*, une étude plus approfondie de la répartition géographique du rouget montre qu'il est, dans chacun des Etats envahis, des « pays à rouget » dans lesquels la maladie est entretenue. La diffusion en dehors de ces zones « d'infection permanente » s'opère fréquemment; mais, dans la plupart des foyers secondaires, la maladie ne tend pas à persister. Tantôt une épizootie grave éclate en un pays indemne et décime en quelques semaines les effec-

tifs; tantôt la contagion s'étend de proche en proche, par reptation lente, en dehors d'un foyer ancien. Dans l'un et l'autre cas, il est rare que la maladie s'établisse à demeure sur les territoires qu'elle a conquis; elle s'éteint sur place, vers la fin de la saison chaude, pour ne plus reparaitre. Parfois seulement, le rouget importé dans une zone indemne s'y acclimate d'emblée, et un nouveau centre d'affection permanente est créé.

En certaines régions, le rouget existe sous des formes atténuées, variables dans leur expression. Ce sont, tantôt des localisations internes (endocardites, rachitisme, entérites), tantôt des accidents cutanés (Nesselfieber, Hautbrand, Backteinblattern-Krankheit, érysipèle, urticaire, prurigo). Ces accidents sont observés en des régions déterminées en dehors des centres d'élection du rouget grave; on les retrouve en Danemark, dans le Hanovre, la Saxe, la Bohême, le Luxembourg; en France, ils sont constatés dans les départements du Gers, du Tarn, du Tarn-et-Garonne, dans le voisinage du grand foyer du Plateau Central.

En l'état actuel de nos connaissances, il est impossible d'expliquer ces allures mystérieuses de la contagion.

Pourquoi certains pays restent-ils indemnes, comme la Grande-Bretagne, alors que le bacille y est rencontré, alors qu'on le retrouve, atténué, au sein de lésions chroniques? Pourquoi ces différences dans l'évolution suivant les régions considérées?

On ne saurait invoquer l'influence de la race; les porcs anglais importés sur le continent sont décimés par le rouget. Le régime et le mode d'entretien ne jouent aucun rôle; le rouget épizootique sévit à la fois dans les élevages industriels du Danemark et de la Prusse et dans les pays d'élevage pastoral, que les animaux soient entretenus en bandes nombreuses, comme en Hongrie, ou en petits groupes isolés, comme dans la Bretagne ou l'Auvergne. L'expérimentation montre d'ailleurs que,

dans les formes chroniques, le bacille isolé est très atténué, incapable parfois de tuer le lapin et même la souris. La question reste donc entière sous une autre forme : Pourquoi cette atténuation du bacille en certaines localités? »

Nous noterons aussi l'apparition soudaine en divers pays de très petits foyers qu'on aurait jadis qualifiés de spontanés, dans lesquels la maladie naît sans raison appréciée et disparaît parfois même sans intervention. La porcherie de l'Ecole d'Alfort est un parfait exemple de ces faits. Voici ce qu'en écrivait Nocard en 1902 : « Le rouget n'existe pas à la porcherie de l'Ecole. On n'y a pas importé depuis longtemps d'animaux venus du dehors; la contagion ne peut être mise en cause. Ce n'est pas la première fois que semblable fait se produit (1). Voilà bien, depuis vingt ans, six ou sept cas semblables que j'observe et toujours ces cas de rouget authentique, établis par l'examen bactériologique et par l'expérimentation, sont restés isolés. La surveillance attentive dont nos porcs sont l'objet explique que la maladie ne se soit pas propagée. Mais cela n'explique pas comment la maladie se montre de loin en loin, en dehors de toute occasion de contagion. On admet communément aujourd'hui que le microbe du rouget peut vivre à l'état saprophytique et à divers degrés de virulence dans certains sols et dans certaines eaux. Cette hypothèse de la vie saprophytique du microbe du rouget explique bien la genèse de la maladie en dehors de toute occasion de contagion. »

Les causes les plus diverses président bien évidemment aux conditions évolutives du rouget. Pollution du sol, des eaux, des organismes sensibles, hôtes intermédiaires, variations de la virulence, nature et forme de

(1) Il s'agissait de l'apparition d'un cas unique de rouget à localisation endocardique.

l'alimentation, associations microbiennes, sont autant de facteurs qui peuvent façonner les modalités des enzooties.

Nous avons jugé qu'il convenait de rechercher, *pour une part*, dans la *constitution même des divers sols*, la raison des variations évolutives relevées dans la connaissance épidémiologique du rouget.

Il n'est pas excessif de penser que certaines terres sont favorables à la conservation de la virulence du bacille spécifique, alors que d'autres ne la permettent pas. Certains sols, aussi, ne sont-ils pas, par opposition à d'autres, vraiment aptes à la culture du bacille du rouget. Ceux qui se montrent impropres à cette particularité ne peuvent-ils pas, du fait de l'apport de certains éléments nouveaux, conquérir une aptitude qui leur manque?

Nous avons donc poursuivi, d'un côté, l'étude de la répartition en France des divers foyers de l'infection, dans ses rapports avec la constitution locale des sols, et, de l'autre, des essais de culture du bacille du rouget, dans des sols empruntés, soit à des régions infectées, soit en des surfaces où la maladie n'a jamais été observée.

1. Foyers infectieux et nature des sols

Notre attention s'est tout d'abord portée sur une connaissance géographique aussi précise que possible des foyers infectieux identifiés en France.

Une enquête largement entreprise nous a permis d'identifier en toute certitude plus de deux cents foyers répartis dans toute la France. L'importance de chacun d'eux est variable. Quelques-uns répondent à tout un arrondissement et c'est par centaines qu'on y compte les exploitations infectées; d'autres, moins vastes, ne couvrent que les territoires de plusieurs communes; d'autres, enfin, se limitent à la surface de quelques fermes, voire même d'une seule.

Dans ces zones infectées, nous avons distingué des *foyers permanents* et des *foyers occasionnels*. Des premiers, nous avons fait deux séries : l'une groupant les foyers importants, l'autre, les foyers de valeur moyenne. Les seconds ne sont que des foyers occasionnels ou transitoires.

Nous avons utilisé pour nos recherches la carte au millionième du Service de la Carte géologique de France.

N'ont été retenus que les foyers dont la nature géologique a pu être déterminée en toute certitude et pour lesquels le sol considéré présentait une nette prédominance ou mieux constituait à lui seul toute la région étudiée.

Cette discrimination a réduit le nombre des foyers étudiés à 175, mais permet une connaissance certainement exacte de la constitution géologique de ceux-ci.

Nous nous sommes placés, pour l'appréciation des résultats, au seul point de vue géologique, laissant de côté la répartition géographique du rouget déjà bien connue en France. Aussi examinerons-nous la dispersion des foyers de la maladie, dans chacun des systèmes géologiques.

1° TERRAIN PRIMITIF. — TYPE ARCHÉEN. — Ce terrain est constitué des roches suivantes : gneiss, micaschistes, schistes, schistes chloriteux, amphibolites et pyroxénites.

Nous avons relevé, dans les régions constituées par ces roches, quatorze foyers, dont douze permanents; huit de ces derniers sont très importants.

Le gneiss nous montre deux foyers, l'un important à Limoges, l'autre moins étendu à Rodez.

Les pyroxénites et amphibolites présentent deux foyers occasionnels. L'un d'eux situé à Massiac (Cantal) a vu seulement quelques malades en 1924, le deuxième à Verton (Loire-Inférieure), de valeur moyenne, apparaît à deux reprises, en 1924 et 1927.

Enfin, dans les schistes et micaschistes, nous comptons onze foyers permanents, dont sept sont importants, mais aucun foyer occasionnel.

Au nombre de ces foyers sont les localités suivantes :

Gros foyers :

Uzerche (Corrèze).
La Salvetat (Aveyron).
Jumillac-le-Grand (Dordogne).
Bussièrès-Badil (Dordogne).
Lanouaille (Dordogne).
Lannilis (Finistère).
Ploudalmezeau (Finistère).

Foyers de valeur moyenne :

Aubusson (Creuse).

Confolens (Charente).

Saint-Yrieix (Haute-Vienne).

Montluçon (Allier).

Il ressort donc de ces observations, que les terrains primitifs et principalement les schistes et micaschistes sont favorables à l'entretien de foyers permanents d'infection.

2° TERRAINS PRIMAIRES. — La série primaire comprend les systèmes géologiques suivants : le Silurien, le Dévonien, le Carbonifère, le Permien. Sur toute l'étendue de notre territoire, constituée de terrains primaires, nous relevons un total de vingt foyers, dont dix-huit situés dans le Silurien. En voici le détail pour chacun des systèmes géologiques considérés :

Le Silurien, composé en majeure partie de granites et de granulites, compte huit gros foyers, un foyer de valeur moyenne et neuf foyers occasionnels.

Gros foyers :

La Bastide-l'Evêque (Aveyron).

La Souterraine (Creuse).

Guéret (Creuse).

Voutezac (Corrèze).

Lannion (Côtes-du-Nord).

Lézardrieux (Côtes-du-Nord).

La Roche-Derrien (Côtes-du-Nord).

Audierne (Finistère).

Foyers de valeur moyenne :

Landivisiau (Finistère).

Foyers occasionnels :

Hennebont (Morbihan), 1925.

Saint-Pol-de-Léon (Finistère), 1927-1928.

Craon (Mayenne), 1926-1927.
Vire (Calvados), 1924.
Thouars (Deux-Sèvres), 1927.
Nantes (Loire-Inférieure), 1924-1925.
Hyères (Var), 1925-1926.
Saint-Chély-d'Apcher (Lozère), 1926.
Sables-d'Olonne (Vendée), 1927.

Dans le Dévonien (inférieur), nous notons un foyer de moyenne importance à Bourbon-Lancy (Saône-et-Loire). Dans le Carbonifère (supérieur et moyen), un foyer de valeur moyenne au Creusot (Saône-et-Loire). Enfin, nous ne relevons aucun foyer dans le Permien.

Les sols du Silurien du Massif Armoricain se montrent donc les plus favorables des terrains primaires, à la fois à l'éclosion et à l'entretien de foyers d'infection, puisqu'aussi bien nous y notons autant de foyers permanents que de foyers occasionnels survenus en ces dernières années.

On pourra faire cette objection que dans les Ardennes, où le Silurien domine, il n'y a pourtant pas de foyer de rouget. En dehors de toute considération climatique, qui, peut-être, suffirait à éclairer ces divergences entre la Bretagne et l'Ardenne, nous noterons les différences de constitution du Silurien ardennais et du Silurien breton. La composition du Silurien des Ardennes est fort simple; il est tout entier constitué par une puissante série de schistes durs (Phyllades) interrompues par places de bancs de quartzites compacts ou schisteux. Le Silurien breton est formé, au contraire, de couches gréseuses, schisteuses ou calcaires en plis à peu près parallèles (Est-Ouest) comblés par des sédiments plus récents. On y rencontre des poudingues pourprés, des schistes rouges entremêlés de calcaires impurs ou marmoréens et de grès feldspathiques, dans le Cambrien. Dans le Silurien moyen (étage armoricain) on rencontre aussi

des schistes ardoisiers et le grès armoricain. Cette simple énumération met en évidence les grandes différences géologiques du Silurien breton et du Silurien ardennais. La présence de sédiments chez le premier permet sans doute d'expliquer son comportement différent à l'égard du rouget.

3° TERRAINS SECONDAIRES. — La série secondaire ou Mésozoïque se divise en trois grands groupes géologiques : le *Triasique*, le *Jurassique* et le *Crétacé*.

Nous allons examiner, dans chacun de ces groupes, et pour chacun des systèmes géologiques qui les composent, la répartition des « pays à rouget ».

a) *Triasique*. — Le Triasique, uniquement constitué du système Trias, ne renferme de foyers d'infection que dans son étage marin, le Muschelkalk, formé de calcaires marneux. Nous notons dans le Muschelkalk un foyer permanent peu important à Vittel, et un foyer transitoire à Dompaire (Vosges), qui apparaît à deux reprises, en 1924 et 1928.

b) *Jurassique*. — Le Jurassique comprend Infra-lias et Lias, Oolithe (Bathonien, Bajocien) et Jurassique supérieur; nous allons examiner successivement ces trois systèmes.

Dans l'*infra-lias* et le *lias*, qui sont relativement étendus en France, nous notons six foyers; quatre sont permanents, trois d'entre eux sont importants; enfin les deux autres sont des foyers occasionnels.

Infra-lias et lias : Gros foyers :

Villefranche-de-Rouergue (Aveyron).

Saint-Affrique (Aveyron).

Aix (Bouches-du-Rhône).

Foyer de valeur moyenne :

Mirecourt (Vosges).

Foyers occasionnels :

Arnay-le-Duc (Côte-d'Or), en 1925.
Lons-le-Saunier (Jura), en 1924-25.

Dans le Jurassique moyen (Oolithe), nous comptons vingt-deux foyers d'infection, dont treize sont permanents.

En voici l'énumération :

Jurassique moyen :

Gros foyers :

Nontron (Dordogne).
Lusignan (Vienne).
Gençay (Vienne).
Civray (Vienne).
Montmorillon (Vienne).
Audun-le-Roman (Meurthe-et-Moselle).
Neufchâteau (Vosges).
Gap (Hautes-Alpes).

Foyers de valeur moyenne :

La Rochelle (Charente-Inférieure).
Longuyon (Meurthe-et-Moselle).
Moulin-en-Gilbert (Nièvre).
Briey (Meurthe-et-Moselle).

Foyers occasionnels :

Morez (Jura), en 1924.
Dôle (Jura), en 1926-27.
Saint-Amour (Jura), en 1926-27.
Audincourt (Doubs), en 1926-27.
Gy (Haute-Saône), en 1925.
Vesoul (Haute-Saône), en 1924.
La Verpillière (Isère), en 1924.
Trun (Orne), en 1924 et 1925.
Surgères (Charente-Inférieure), en 1926.

Jurassique supérieur. — Enfin, le Jurassique supérieur est le siège de deux foyers importants seulement :

Gros foyers :

Châmpniers (Charente).

Burie (Charente-Inférieure).

Des terrains jurassiques, l'étage moyen (*Oolithe*) est donc de beaucoup le plus favorable au développement et à la conservation de foyers d'infection. Au contraire, les autres étages *Lias et infra-lias*, d'une part, *Jurassique supérieur*, d'autre part, se révèlent peu propices à la création de nouveaux foyers, mais semblent cependant permettre l'installation de zones d'infection permanente (six foyers permanents sur huit).

c) *Crétacé.* — Le Crétacé se divise en deux systèmes : *Crétacé* et *Infracrétacé*. Ces deux divisions de la série crétacée sont bien homogènes, pourvues d'une faune paléontologique très distincte, basée sur les données stratigraphiques importantes et de grandes variations dans la nature des dépôts. C'est ainsi que la craie ne se présente que dans le crétacé proprement dit sous les formes suivantes : craie verte glauconieuse (*Cénomaniennne*), craie marneuse (*Turonienne*), craie blanche (*Sénonienne*), craie jaune (*Daniennne*). Au contraire, dans l'*infracrétacé*, on ne rencontre que les sables et argiles du *Gault*, les *marnes aptiennes* et les *calcaires néocomiens*.

Si nous avons insisté sur ces différences géologiques, c'est que grande est également la divergence de ces deux divisions à l'égard des « pays à rouget », ainsi que nous allons le voir.

Dans l'*infracrétacé* nous remarquons un seul foyer permanent, important, il est vrai, à Vailly-sur-Sandre, dans le Cher. Pas de foyer occasionnel.

Dans le crétacé proprement dit, nous relevons, par

contre, dix-neuf foyers, dont sept sont permanents, ce sont :

Gros foyers :

Vergt (Dordogne).
Saint-Astier (Dordogne).
Le Bugue (Dordogne).

Foyers de valeur moyenne :

Oisemont (Somme).
Vervains (Aisne).
La Ciotat (Bouches-du-Rhône).
Brignolles (Var).

Foyers occasionnels :

Gamaches (Somme), en 1926.
Amiens (Somme), en 1924-25-26.
Ham (Somme), en 1926.
Saint-Quentin (Somme), en 1924-25-26-27.
Conty (Somme), en 1924 et 1927.
Bohain (Aisne), en 1924 -25.
Le Catelet (Aisne), en 1924.
Vermand (Aisne), en 1926-27.
Origny (Aisne), en 1925-26.
Montivilliers (Seine-Inférieure), en 1924.
Cany (Seine-Inférieure), en 1924.
Bonnétable (Sarthe), en 1925 et 1927.

Le *Crétacé* se montre donc favorable à la création de nouveaux foyers de rouget, mais ces foyers ont une très nette tendance à disparaître, ainsi que l'indique le grand nombre de foyers occasionnels rapidement éteints (douze foyers sur dix-neuf).

Si, pour conclure, nous examinons l'ensemble des terrains secondaires, nous remarquons : que le triasique héberge difficilement des foyers de rouget; que parmi les terrains jurassiques, l'étage moyen est le plus

propice au développement du rouget, les étages inférieur et supérieur permettant toutefois l'évolution de quelques foyers permanents; que dans la série crétacée, enfin, l'infracrétacé est généralement défavorable au développement de l'infection, au contraire du crétacé proprement dit. A noter, chez ce dernier, l'évolution éphémère d'un grand nombre de foyers dans les départements de la Somme et de l'Aisne.

4° TERRAINS TERTIAIRES. — Les terrains tertiaires occupent presque le tiers de la surface de la France. Ils sont concentrés principalement dans l'intérieur des trois bassins de la Seine, de la Gironde et du Rhône. Il est remarquable de constater que dans des régions aussi hautement agricoles, il y ait, compte tenu des surfaces considérées, aussi peu de « pays à rouget », comme le montre l'énumération ci-dessous :

a) *Eocène.*

Gros foyer :

Pleumartin (Vienne).

Foyers de valeur moyenne :

Lignières (Cher).

Graulhet (Tarn).

Foyers transitoires :

Beuzeville (Eure), en 1924 et 1926.

Limoux (Aude), en 1924-25.

b) *Oligocène.*

Gros foyer :

Aucun foyer.

Foyer de valeur moyenne :

Le Puy (Haute-Loire).

Foyers transitoires :

Nangis (Seine-et-Marne), 1924-25.

Bazas (Gironde), 1924.

c) *Miocène.*

Aucun foyer.

d) *Pliocène.*

Gros foyers :

Cassel (Nord).

Marseille (Bouches-du-Rhône).

Foyers de valeur moyenne :

Créon (Gironde).

Saint-Médard-de-Guizières (Gironde).

Saint-Vincent-de-Tyrosse (Landes).

Foyers transitoires :

Lesparre (Gironde), 1925.

Montpellier (Hérault), 1924 et 1926.

Nice (Alpes-Maritimes), 1927.

Chateaubriant (Loire-Inférieure), 1926 et 1928.

Saint-Germain-du-Bois (Saône-et-Loire), 1924,
25-26.

Le Donjon (Allier), 1924-25 et 1927.

Les terrains tertiaires ne se montrent donc pas propices au développement, ou même à l'implantation du rouget. Seul, le *Pliocène*, qui présente onze foyers, dont six sont transitoires et deux, seulement, importants, doit être jugé sans nuisibilité à l'égard du bacille du rouget.

5° TERRAINS MODERNES QUATERNAIRES (Pleistocène). — Sous cette dénomination sont classés les terrains d'alluvion. Ce sont eux qui ont contribué, pour la plus grande part, à la formation de la terre végétale et, par suite, à la fertilité du pays. Ils reposent indistinctement, sur tous les terrains que nous venons d'examiner, formant des

nappes de peu d'épaisseur, qui occupent le fond des vallées et les parties inférieures de leurs flancs. Le fait de leur situation exclusive dans les vallées donne une appréciation immédiate de leur étendue, relativement aux autres sols. En effet, si ces alluvions sont réparties un peu dans toutes les régions de France, elles sont cependant loin d'occuper une surface comparable à celle tenue par les terrains tertiaires, par exemple. Nous allons voir que, malgré cela, elles possèdent à elles seules plus du tiers des « pays à rouget » du sol français (34,4 %). De plus, des soixante foyers que nous y avons relevé, trente-cinq sont permanents, et vingt de ceux-ci sont particulièrement actifs. En voici l'énumération :

Pleistocène.

Gros foyers :

Etang (Gers).
Castelsarrasin (Tarn-et-Garonne).
Valence-d'Agen (Tarn-et-Garonne).
Tours (Indre-et-Loire).
La Réole (Gironde).
Nîmes (Gard).
Carbonne (Haute-Garonne).
Grenade (Haute-Garonne).
Mazères (Ariège).
Marmande (Lot-et-Garonne).
Sainte-Livrade (Lot-et-Garonne).
Sainte-Bazeille (Lot-et-Garonne).
Astaffort (Lot-et-Garonne).
Mussidan (Dordogne).
Castres (Tarn).
Gaillac (Tarn).
Strasbourg (Bas-Rhin).
Burmath (Bas-Rhin).
Hochfelden (Bas-Rhin).
Bollène (Vaucluse).

Foyers de valeur moyenne :

Auch (Gers).
 Sainte-Marie (Basses-Pyrénées).
 Albertville (Haute-Savoie).
 Azay-le-Rideau (Indre-et-Loire).
 Auxonne (Côte-d'Or).
 Lagny-sur-Moselle (Moselle).
 Monthureux-sur-Saône (Vosges).
 Bergues (Nord).
 Cambrai (Nord).
 Castelnaudary (Aude).
 Friez-Petit-Croix (Belfort).
 Saint-Gaudens (Haute-Garonne).
 Orange (Vaucluse).
 Bagnères-de-Bigorre (Hautes-Pyrénées).
 Elne (Pyrénées-Orientales).

Foyers transitoires :

Rouen (Seine-Inférieure), 1926.
 Calais (Pas-de-Calais), 1924-25.
 Saint-Omer (Pas-de-Calais), 1926.
 Thonon-les-Bains (Haute-Savoie), 1924-26.
 Montrevel (Ain), 1926.
 · Dijon (Côte-d'Or), 1927.
 Seurre (Côte-d'Or), 1924.
 Blois (Loir-et-Cher), 1926-27.
 Lyon (Rhône), 1924.
 Château-du-Loir (Sarthe), 1927.
 Thionville (Moselle), 1924-25.
 Sarrebrück (Moselle), 1927.
 Charmes (Vosges), 1925-26.
 Thaon (Vosges), 1927-28.
 Brioude (Haute-Loire), 1925.
 Hazebrouck (Nord), 1924-25.
 Carcassonne (Aude), 1926-27-28.
 Soissons (Aisne), 1926.

Coucy-le-Château (Aisne), 1924.

Villers-Bocage (Somme), 1924.

Mézières (Ardennes), 1924.

Margut (Ardennes), 1924.

Parentis-en-Borne (Landes), 1924 et 1926.

Châlons-sur-Marne (Marne), 1926.

Tarbes (Hautes-Pyrénées), 1924.

La longue énumération précédente permet de constater que ces terrains alluvionnaires hébergent des pays à rouget, aussi bien dans le Midi de la France que dans le Nord, dans l'Est comme dans l'Ouest. Nous relevons, en effet, de nombreux foyers permanents et importants dans les départements du Lot-et-Garonne, du Tarn-et-Garonne, du Tarn, de la Haute-Garonne, comme nous en remarquons à Bergues et à Cambrai dans le Nord.

Par ailleurs, le département du Bas-Rhin montre avec Strasbourg, Burmath et Hochfelden, trois gros centres d'infection permanente, analogues à ceux rencontrés à Tours (Indre-et-Loire), ou à la Réole (Gironde).

Il est également à remarquer que le système géologique sur lequel s'est formé le dépôt alluvionnaire moderne est indifférent à la répartition des zones d'infection du rouget, comme nous allons le montrer.

Le bassin de la Garonne est constitué, dans sa majeure partie, de terrains tertiaires. Ces terrains y figurent dans leurs quatre étages : *Eocène*, *Oligocène*, *Miocène* et *Pliocène*.

Nous avons vu précédemment combien ces terrains sont peu favorables au développement du rouget. Cependant, les alluvions quaternaires qui s'y sont déposées constituent un sol très propice aux enzooties de la maladie. Nous reviendrons sur ce fait en ce qui concerne la répartition des foyers d'infection dans le bassin de la Garonne.

Il en va de même dans les Vosges, dont le Trias forme l'assise principale. Ce système géologique, nous l'avons

vu, ne comporte que deux foyers de rouget reconnus. Les autres foyers rencontrés dans ce massif sont imputables aux alluvions quaternaires, tels ceux de Monthureux-sur-Saône, de Charmes et de Thaon.

CONCLUSIONS. — Reprenons, dans une revue d'ensemble et pour conclure, les sols qui se sont révélés, au cours de nos investigations, comme les plus favorables à l'évolution du rouget.

Des terrains primitifs, nous retiendrons les schistes et micaschistes, qui se montrent propices surtout aux foyers permanents. Nous y joindrons le Silurien breton, granites et granulites, qui, des terrains primaires, est le plus fréquemment le siège d'enzooties et qui, avec les schistes et les micaschistes, constitue la presque totalité du Massif Armoricaïn. On sait d'ailleurs que la Bretagne est depuis longtemps considérée comme une région d'endémicité du rouget.

Dans les terrains secondaires, seuls les étages du Jurassique moyen et du Crétacé supérieur sont le siège d'enzooties limitées. Avec cette restriction que si le Jurassique moyen, ou Oolithe, permet l'établissement de foyers permanents, le Crétacé, lui, ne semble pas assurer la conservation des foyers transitoires assez nombreux que l'on y rencontre. Ce fait est particulièrement net dans les départements de la Somme et de l'Aisne.

Quant aux terrains tertiaires, nous avons vu que, seul parmi eux, le Pliocène compte des foyers de rouget.

Enfin, les alluvions quaternaires se révèlent incomparablement fertiles à l'égard du rouget, puisque nous y avons noté plus de 34 p. 100 des pays à rouget parvenus à notre connaissance. Ce fait est plus caractéristique encore si l'on examine la dispersion des zones d'enzootie dans le bassin de la Garonne.

Cette région est entièrement constituée de terrains

tertiaires, oligocène et eocène au nord et à l'est de la Garonne, miocène et pliocène au sud et à l'ouest. Dans ces terrains se sont creusées les vallées de la Garonne et de ses affluents, vallées qui sont aujourd'hui comblées en partie par les alluvions quaternaires.

On sait, d'autre part, l'importance du cheptel porcin dans cette région (327.450 porcs en 1928 pour les départements de la Haute-Garonne, du Tarn, Tarn-et-Garonne, Lot-et-Garonne et de la Gironde).

On conviendra avec nous que l'élevage du porc n'est guère différent, suivant que l'on considère les élevages de la vallée ou ceux situés sur les collines de la Haute-Garonne ou du Lannemezan.

Nous allons montrer rapidement que, dans la vallée de la Garonne, sont seules infectées endémiquement les régions constituées d'alluvions. Si nous descendons cette vallée, nous rencontrons à Saint-Gaudens, Carbonne et Grenade (1), dans la Haute-Garonne, trois grands foyers de rouget. Parallèlement, dans la vallée de l'Ariège, nous avons un gros foyer à Mazères. Continuant la vallée de la Garonne, nous notons, à Valence-d'Agen et à Castelsarrasin, deux grands centres d'infection. Si nous examinons la vallée du Tarn, nous relevons deux autres gros foyers avec Castres et Gaillac et, pour la première fois ailleurs que dans les alluvions, un foyer moyen à Graulhet, dans l'éocène. Plus loin, dans le Lot-et-Garonne, Marmande, Sainte-Livrade, Sainte-Bazeille, sur la Garonne, et Astaffort, sur le Gers, constituent quatre centres très importants. Enfin, La Réole (Gironde) termine la liste des grands pays à rouget de cette vallée. Remarquons que, dans la Gironde, les trois autres foyers

(1) Les foyers qui, comme ceux-ci, sont situés dans les alluvions quaternaires, ne seront pas suivis de cette désignation géologique dans le but d'éviter les répétitions au cours de l'exposé.

signalés sont en dehors des alluvions quaternaires, mais tous trois sont seulement transitoires.

On peut émettre l'hypothèse que les variations constatées dans la dispersion et le nombre des foyers de la maladie ne sont dues qu'à des différences, de même ordre, du cheptel porcin. Il n'en est rien. Nous voyons, en effet, d'une part, un département où les foyers sont nombreux, comme celui des Vosges (neuf foyers), posséder seulement 42.240 porcs; de même, des départements de faible population porcine, comme le Var (14.750) et le Vaucluse (16.780, relativement très infectés puisqu'ils ont chacun des zones d'enzootie importantes. D'autre part, au contraire, des départements dont le cheptel est considérable ne présentent que peu de foyers d'infection, voire même aucun. Il en est ainsi de l'Allier qui, malgré une population de 162.980 porcs, n'a que deux foyers peu importants; de même, le Morbihan, avec 139.460 porcs, l'Ille-et-Vilaine, 125.520, n'ont pas un seul vrai « pays à rouget ».

Ces quelques exemples, choisis parmi de nombreux, suffisent à infirmer l'hypothèse émise.

Les faits que nous venons de mettre en évidence, en ce qui concerne le comportement différent des divers sols à l'égard du rouget, s'apparentent étroitement aux expériences déjà anciennes de Maggiora.

Ce savant a montré que la teneur en germes de 1 gramme de terre varie suivant l'origine géologique du sol examiné. Maggiora donne les chiffres suivants :

Teneur en germes de 1 gramme de terre :

Roches anciennes	2.800 à	10.000
— tertiaires	1.650 à	15.000
— volcaniques ...	27.500 à	29.000
Terrains tourbeux	17.200 à	160.000
Alluvions quaternaires.	45.000 à	128.000
Terre cultivée	60.000 à	11.875.000
Terre de rue de Turin.	1.390.000 à	78.000.000

De ces numérations, nous retiendrons surtout celles qui sont directement comparables aux chiffres de notre étude et qui concernent les terrains tertiaires et les alluvions. Nous avons montré combien, d'une part, les terrains tertiaires étaient peu favorables à l'évolution endémique du rouget et combien peu nombreux étaient les foyers d'infection que l'on y peut déceler malgré l'étendue occupée par ces terrains. Les recherches de Maggiora nous montrent concurremment que ces mêmes sols sont ceux qui renferment le moins de germes.

D'autre part, les alluvions que nous avons reconnues comme particulièrement favorables à l'établissement des « pays à rouget » se montrent de beaucoup le sol le plus riche en germes, le mot sol s'entendant ici d'un système géologique.

Il semble donc se dégager de cette comparaison que les sols les plus riches en germes, d'une manière générale, sont aussi, le plus souvent, le siège des enzooties de rouget, et ce fait doit être considéré comme une preuve nouvelle de l'origine saprophytique de nombre de cas de rouget.

II. Essais de culture du bacille du Rouget dans les différents sols

Une très longue expérience établit, nous l'avons dit, qu'en tous pays il est des régions où l'évolution du rouget apparaît particulièrement favorable. Ou bien la maladie sévit en ces centres en permanence, sans autres variations que celles que provoquent l'influence saisonnière ou diverses questions d'exploitation, ou bien elle procède, semble-t-il, d'une importation malheureuse, et le foyer infectieux ainsi produit s'éteint sur place, sans essaimage et sans retour offensif.

Nous avons vu, d'autre part, ce qu'est, en France, la répartition géographique des divers centres de l'infection et ce qu'il est permis de penser de cette répartition dans ses rapports avec la constitution des différents sols.

On peut en juger, *a priori*, que la nature du sol doit exercer ici une influence, sinon prépondérante, tout au moins hautement caractérisée, sur l'aptitude d'une région à la culture du germe spécifique.

Déjà, Erich Hesse et Marmorstein, dont les travaux nous étaient inconnus avant que s'achèvent nos recherches, ont étudié tous deux, indépendamment, le rôle des sols sur la conservation de la vitalité du bacille du rouget. On verra que c'est à un point de vue différent du leur que nous nous sommes placés.

Erich Hesse examine tout d'abord la réaction de différents sols. Elle s'établit à des pH variant de 4,4 à 7,4, selon leur nature. Il apprécie ensuite leur teneur en germes divers. Il recherche enfin les conditions de la survie du bacille du rouget dans divers échantillons de

terre préalablement stérilisés à 180°, à deux reprises, puis ensemencées avec des cultures du microbe âgées de quarante-huit heures.

« En ces formes expérimentales, dit Erich Hesse, la survie du bacille du rouget varie avec les différents sols. Ce sont les terrains riches en humus, sable et calcaire, qui sont particulièrement favorables.

« La condition première de la survie du bacille, écrit-il, réside dans la réaction des différents sols. Dans les sols à réaction alcaline, au bout de quatre-vingt-dix jours, la vitalité du bacille n'a pas varié, ce qui permet de conclure, ajoute Erich Hesse, à une survie de plusieurs années dans ces terrains ». On nous permettra de juger excessive une telle extension d'une conclusion limitée, dans le temps, par le résultat de l'expérience.

« Les terrains à réaction naturellement acide, de même que les terrains acidifiés artificiellement, tuent dès les premiers jours les bacilles du rouget qu'on y introduit. L'addition d'un matériel alcalin permet, dans les sols acides, la même survie que dans les sols alcalins. »

Quant à Marmorstein, dont nous n'avons pu nous procurer le travail original, il aurait réalisé — fait tout normal — la culture du bacille du rouget à 37° dans la terre stérile arrosée de purin ou d'une infusion de foin légèrement alcaline.

Toutes ces constatations n'ajoutent rien à la doctrine défendue, dès 1899, par Lorenz et par Foth, qui veulent que le bacille, sous diverses virulences, se rencontre dans le sol et dans les eaux, non plus qu'aux faits signalés par Nocard, qui plaident dans le même sens.

Il nous a donc paru intéressant de rechercher, non point la survivance du bacille spécifique dans les divers sols, mais, tout au contraire, l'aptitude de ceux-ci à sa culture.

Nous nous sommes préoccupés, tout d'abord, de la

recherche de la valeur de la concentration en *ions* hydrogène des divers sols dans ses rapports avec leur aptitude à cultiver le bacille de Pasteur et Thuillier.

Les travaux de Fromageot ayant démontré, parmi d'autres, combien varie, pour un même sol, la valeur du pH selon le point de prélèvement de l'échantillon considéré, c'est sur des échantillons moyens, du poids de 200 grammes, que toutes nos expériences ont porté.

Fromageot a établi, en effet, qu'en prélevant, à l'aide d'un appareil spécial, de petits échantillons du poids d'environ 0 gr. 7, récoltés les uns et les autres en un parfait voisinage, on relève, pour les sols à acidité moyenne notamment, toute une gamme de valeur pH oscillant entre 5 et 7,3, tandis que le chiffre moyen s'établit à 6,4.

En nombre de nos expériences, nous avons utilisé, selon la technique qui va être indiquée, la macération pure et simple des sols éprouvés.

Dans beaucoup d'autres cas, nous avons ajouté à ces macérations diverses substances propres à favoriser le développement microbien et à nous permettre d'interpréter les résultats négatifs enregistrés à l'occasion de l'emploi de macérations pures et simples.

La technique utilisée dans toutes nos expériences a été la suivante. Des terres sont récoltées en diverses régions, au voisinage du laboratoire, ou dans divers points de France qui se révèlent favorables ou non à l'évolution du rouget. Les terres recueillies sont abandonnées, durant un certain temps, à la température du laboratoire, dans le but d'obtenir leur dessiccation relative spontanée. L'échantillon est alors tamisé, de manière à en séparer les grosses particules inertes ou les fines pierres qu'il pourrait contenir.

A 200 grammes de la terre tamisée ainsi obtenue, on ajoute 100 centimètres cubes d'eau distillé. On agite fortement à plusieurs reprises et on abandonne le mélange à une température voisine de 2° durant trois jours,

en ayant soin d'agiter deux à trois fois par jour. Au bout de ce temps, on décante le liquide de macération, puis on le centrifuge. On le filtre ensuite sur bougie Chamberland B, sous une dépression d'environ 20 centimètres de mercure. L'opération est poursuivie avec toutes les précautions d'asepsie requises et toujours dans les mêmes conditions. La répartition du liquide de filtration est opérée en tubes stériles à raison de 10 centimètres cubes pour chacun d'eux.

Alors que l'expérience comporte l'addition, aux macérations filtrées, de diverses substances destinées à favoriser la pullulation des germes, celles-ci, préparées d'autre part en solution mère, titrées et aseptiques, sont, aseptiquement aussi, introduites en quantité connue, dans chaque tube de culture, peu avant leur emploi. Avant ensemencement, les tubes sont soumis à un étuvage de quarante-huit heures, dans le but de s'assurer de leur parfaite stérilité.

C'est dans ces conditions que nous avons utilisé, dans certaines de nos expériences, l'addition de glucose, d'asparagine, de peptone ou de sérum aux macérations des sols mis à l'étude.

Enfin, certaines de nos expériences ont été poursuivies tout d'abord, pour mieux fixer la technique que nous utilisions; puis d'autres ont porté sur des terres provenant de régions où le rouget est inconnu; d'autres, enfin, sur des terres empruntées à des foyers où le rouget sévit en permanence.

Dans tous les cas, après ensemencement avec différentes races du bacille du rouget, les tubes à l'étude ont été placés, durant quarante-huit heures, à l'étuve à 37° et contrôlés par examen microscopique, de la seizième à la dix-huitième heure, puis à la quarante-huitième.

D'autres expériences ont eu pour but de rechercher la présence du bacille du rouget dans les sols des régions envahies ou des porcheries infectées dont des échantil-

lons nous furent adressés de divers côtés pour nos expériences.

1^o Examen de terres prélevées en régions indemnes

EXPÉRIENCE I. — La terre est prélevée dans le jardin même du laboratoire en un point qui, depuis plusieurs années, n'a reçu ni fumure, ni engrais chimiques; cette terre, très perméable et légère, est constituée par de l'humus et une certaine quantité de silice impalpable. Le pH de la macération est égal à 8,2.

Une série de neuf tubes de la macération filtrée aseptiquement estensemencée avec chacune des trois races du bacille du rouget utilisées dans nos expériences. Après quarante-huit heures, ces tubes sont restés parfaitement stériles.

A d'autres tubes, avant ensemencement, on ajoute aseptiquement, soit 2 p. 100 de glucose, soit 0,5 p. 100 d'asparagine, soit 1 p. 100 de peptone.

Ensemencés dans les mêmes conditions que les précédents et contrôlés dans les mêmes formes, ces tubes restent également stériles.

Voici donc un sol qui se montre complètement inapte, même après amendement, à la culture du bacille du rouget. Il y a lieu de se demander si son infertilité, au point de vue spécial qui nous occupe, est due à l'absence de certains éléments indispensables à la culture du bacille du rouget ou si elle est liée, au contraire, à la présence de substances empêchantes.

Onensemence donc les tubes, qui se sont montrés infertiles pour le bacille du rouget, avec une culture de *E. Coli* âgée de vingt-quatre heures; un développement médiocre, à vrai dire, mais malgré tout d'une netteté évidente, est obtenu. On en peut conclure que si la terre considérée ne possède pas une véritable action antisept-

tique à l'égard du bacille du rouget, elle représente pour celui-ci un milieu nettement dysgénésique.

Ce qui établit bien qu'il en est ainsi, c'est une autre expérience, effectuée dans les mêmes conditions qui viennent d'être exposées, mais sur la macération simple ou enrichie comme il a été indiqué, dont le pH a été préalablement ajusté à 7,6. Tous les tubes ensemencés en ces conditions demeurent également stériles.

EXPÉRIENCE II. — On l'effectue avec un prélèvement de terre identique aux précédents. Ici, le pH de la macération est préalablement adapté à 7,4. A certains tubes, on ajoute 1 et 2 p. 100 de peptone, à d'autres 2 p. 1.000 de glucose, à d'autres encore 1 p. 100 d'asparagine, à d'autres enfin, en même temps, de l'asparagine et du glucose, le tout dans les conditions sus-indiquées.

Des tubes de tous ces ordres divers sont, en même temps que des tubes de bouillon peptoné, utilisés à titre de témoins, ensemencés avec nos diverses races de bacille du rouget. Tandis qu'un développement abondant est obtenu dans les tubes témoins, tous les tubes mis en expérience, quelle qu'en soit la constitution, demeurent stériles.

EXPÉRIENCE III. — Effectuée dans les mêmes conditions que la précédente, mais avec cette variante de la mise en macération pendant huit jours au lieu de trois.

Après ensemencement, on note ici que la race III donne une culture à peine décelable à l'œil nu, mais évidente à l'examen microscopique, culture à tendance filamenteuse et d'un type nettement perturbé; partout ailleurs, aucun développement n'est enregistré.

EXPÉRIENCE IV. — Réalisée dans les conditions même des expériences I et II, mais en utilisant un échantillon de terre recueillie à 15 centimètres de la surface du sol, dans une partie du même jardin, en une zone abondamment fumée tous les ans, le pH de la macération

est égal à 8,2. Au départ de celle-ci, on prépare toute une série de tubes additionnés, comme il a été dit, soit de peptone, soit de glucose isolément, soit du mélange de ces deux éléments. Une autre partie de la macération, ajustée au pH 7,4, est traitée de la même manière.

Tous les ensemencements effectués demeurent stériles.

EXPÉRIENCE V. — La macération utilisée dans l'expérience précédente est ramenée tout d'abord au pH 7,2, puis elle sert à préparer une série de tubes renfermant, les uns 1 p. 100 de peptone, les autres 1 p. 100 de sérum normal de cheval, ou bien enfin, en mélange, ces deux éléments. Tous ces tubes sont ensemencés avec la race III, qui se révèle, d'une manière générale, comme d'une culture plus aisée que les races I et II. On note ainsi que, seuls, les tubes qui renferment du sérum, ou l'addition sérum et peptone, donnent une culture du germe spécifique, culture classique des divers points de vue.

Il est donc logique d'estimer qu'il n'existe, dans le sol examiné, aucune substance réellement empêchante pour l'évolution du rouget, mais qu'il manque à ce milieu des aliments essentiels au développement du germe, aliments dont l'absence est compensée par l'addition du sérum.

EXPÉRIENCE VI. — Instruits par nos précédentes tentatives, nous décidons de poursuivre nos essais ultérieurs en additionnant un certain nombre des tubes mis à l'étude avec du sérum de cheval dans la proportion de 1 p. 100.

Ici, l'expérience est réalisée au départ d'une terre provenant d'une région indemne de la Bourgogne, dans laquelle le rouget n'a jamais été constaté. Il s'agit d'un sol argilo-calcaire régulièrement fumé ou amendé chimiquement.

La macération obtenue donne un pH de 7,4.

Comme dans les expériences précédentes, les tubes sont préparés par addition, soit de peptone, soit de glucose, soit de sérum, soit de sérum et peptone, soit de peptone et glucose, ensemencés avec les trois races utilisées dans la plupart de nos expériences. Tous les tubes mis à l'étude demeurent stériles, sauf ceux qui ont été additionnés de sérum ou de sérum et peptone. Ceux-ci ont donné une culture relativement abondante, sous forme de courts bacilles agglutinés.

2° Examen de terres prélevées dans des régions infectées.

Nous avons réalisé toute une série d'expériences au départ de terre récoltées dans des régions où le rouget sévit en permanence, échantillons divers qu'ont bien voulu nous faire parvenir des vétérinaires des régions intéressées.

Sur ces terres, nous avons procédé à des expériences de deux ordres. Tout d'abord, nous avons procédé à leur ensemencement dans le but d'y rechercher la présence du bacille spécifique; puis, nous avons utilisé des macérations des divers échantillons, mis à l'étude dans le but d'étudier leur aptitude à la culture du bacille.

1° *Recherches du bacille du rouget dans les échantillons mis à l'étude.* — 20 centigrammes environ de chaque échantillon sont ensemencés dans 20 centimètres cubes de bouillon de pH 7,6. Avec la dilution obtenue, on ensemence de gélose peptonée liquéfiée que l'on répartit en boîtes de Roux.

Les bouillons et boîtes de Roux sont portés à l'étuve à 37° et examinés après vingt-quatre, quarante-huit et soixante-douze heures. Si les bouillons renferment des formes assimilables à celles du bacille du rouget, associées à des types microbiens divers, on procède à des

isolements sur milieux solides, par la méthode des dilutions. De même que toute colonie obtenue sur milieux solides est rigoureusement identifiée.

2° *Préparation des macérations.* — Les macérations sont préparées dans les conditions précédemment indiquées. Aux macérations, on ajoute, pour 100 centimètres cubes, 1 gramme de peptone et 0 gr. 50 de chlorure de sodium; le pH est ensuite ajusté à 7,6 et le milieu est filtré aseptiquement sur bougie Chamberland, comme il a été dit déjà.

**Terres recueillies par M. le D^r Vét. Pellegris,
de Limoges**

EXPÉRIENCE I. — Terre prélevée au seuil d'une porcherie où, chaque année, sont constatés quelques cas de rouget.

Les essais les plus minutieux ne permettent pas de mettre en évidence la présence du bacille du rouget dans l'échantillon étudié.

La macération préparée dans les formes précédemment indiquées, pure ou additionnée des divers aliments favorables à la culture, estensemencée avec nos trois races de bacille du rouget. Les résultats obtenus sont ici tout différents de ceux précédemment enregistrés; ils se résument ainsi :

Le développement du microbe a été obtenu dans les tubes simplement additionnés de peptone et de sérum de cheval; on note même le développement du bacille sur quelques tubes renfermant la macération pure et simple, sans aucune addition d'aliments appropriés.

Partout, les formes microbiennes enregistrées sont d'un caractère régulier, du type court, avec une légère tendance à l'agglutination.

EXPÉRIENCE II. — Est réalisée dans les mêmes conditions au départ de ce même échantillon de terre. Des résultats identiques sont obtenus dans tous les tubes ensemencés; le développement microbien se produit plus abondamment dans ceux qui ont reçu, au titre amendement, de la peptone ou du sérum, mais très nettement encore dans les tubes de macération simple.

Deuxième échantillon. — Il est impossible d'y déceler trace du bacille spécifique.

La macération obtenue selon la technique indiquée est d'un pH de 7,8. Cette macération est utilisée sans aucun redressement; d'autres sont ajustées au pH 7,6. Selon les essais, on établit des tubes de macération en nature ou bien des tubes additionnés, comme il a été dit, de peptone ou de chlorure de sodium. Dans toutes les conditions, le développement du microbe est obtenu, ici encore, plus abondamment dans les milieux enrichis que dans la macération simple de la terre mise à l'étude. Aucune forme d'involution n'est observée.

Voici donc un sol nettement favorable au développement du bacille de Pasteur et de Thuillier.

**Terres recueillies par M. le Dr Vét. Doury,
de Mouterre (Vienne)**

Ce prélèvement a été recueilli aux abords immédiats d'une porcherie située à Pouillac, près L'Ile-Jourdain (Vienne), et en plein foyer infectieux. Le prélèvement est effectué à peu de distance du dépôt de fumier.

Le rouget sévit à l'état endémique dans la région et, chaque année, les porcs qui peuplent la porcherie considérée doivent être soumis à la sérovaccination. Cette année, par oubli, les animaux n'ayant pas été vaccinés en temps opportun, deux sujets âgés de 5 mois ont con-

tracté la maladie, ce qui montre bien que celle-ci est vraiment endémique dans le milieu considéré.

Sur quatre échantillons différents isolés du prélèvement reçu, on recherche, par culture en bouillon et par isolement sur de très nombreuses boîtes de Roux, le bacille du rouget. Cette recherche est *absolument vaine*.

On prépare des macérations de l'échantillon choisi dans les conditions générales précédemment indiquées.

Dans un premier essai, une macération de trois jours, additionnée de 1 p. 100 de peptone et de 0,5 p. 100 de chlorure de sodium, est amenée au pH 7,6. On enseme-
nce avec la race III.

Après dix-sept heures d'étuve, tous les tubes ensemencés donnent d'excellentes cultures, montrant de très nombreux bacilles courts de type classique.

Un échantillon de la même terre donne une macération qui, après huit jours, est enrichie de 1 p. 100 de peptone et de 0,5 p. 100 de chlorure de sodium.

Le pH initial de la macération, qui était de 8, est ajusté, après addition de peptone et de chlorure de sodium, à 7,6.

Les substances extractives sont ici tellement abondantes que la macération revêt une coloration foncée, analogue à celle d'un purin qui aurait été largement dilué d'eau.

Ensemencés avec notre race III, tous les tubes donnent, après seize heures de séjour à l'étuve, une culture de valeur moyenne et de forme classique.

Cet échantillon de terre se montre donc favorable, comme le précédent, au développement du bacille du rouget.

**Terres recueillies par M. le D^r Vét. Bissery,
à Marigny-Brezay (Vienne)**

Cet échantillon a été prélevé dans une parcelle de terre fraîchement labourée, tout au voisinage d'une ferme dans laquelle le rouget a été constaté à plusieurs reprises.

Largement poursuivie dans les conditions déjà énoncées, la recherche du bacille du rouget dans le présent échantillon s'est montrée complètement négative.

Une macération, préparée au départ de cet échantillon, est utilisée après huit jours de contact.

Après centrifugation, le pH est égal à 7,8; il serait, par conséquent, favorable au développement du bacille du rouget dans un milieu de culture favorablement choisi. On l'ajuste cependant à 7,6 après addition de 1 p. 100 de peptone et 0,5 p. 100 de chlorure de sodium. Après filtration et répartition aseptique, onensemence une série de tubes avec la race III.

Après seize heures de séjour à l'étuve à 37°, les tubes ensemencés donnent une culture médiocre du bacille du rouget, lequel s'est développé sous forme d'éléments petits, réguliers de forme, mais ne présentant point aussi solidement qu'à l'ordinaire l'aptitude à donner la réaction de Gram.

En somme, échantillon de terre à la limite de l'aptitude à la culture du bacille du rouget.

**Terres recueillies par M. Deguillaume, méd. vét.
à Saint-Léonard (Vienne)**

Pas plus que dans les tentatives précédentes, il n'est possible de mettre en évidence le bacille de Pasteur et de Thuillier, mais ici encore, comme précédemment, la flore microbienne obtenue est abondante et variée.

Après huit jours de macération, on obtient un liquide de pH 7,2. Après addition de peptone et de chlorure de sodium, on ajuste le pH à 7,6, puis on filtre.

Ensemencement de toute une série de tubes avec la race III. Après seize heures de séjour à l'étuve à 37°, on obtient un maigre développement du bacille du rouget. Terre, en somme, peu favorable au développement du bacille spécifique.

**Terres recueillies par M. Legrand, méd. vét.
à Poitiers**

Premier échantillon. — Cet échantillon provient des environs immédiats d'une porcherie située sur le territoire de la commune de Danzé. La recherche du bacille est totalement infructueuse, malgré des essais multiples effectués dans les conditions indiquées.

Après huit jours, la macération obtenue est de pH 7,6. Ce sol, si l'on ne considère que sa réaction moyenne, serait donc particulièrement favorable au développement du bacille. On additionne de peptone et de chlorure de sodium dans les conditions déjà indiquées; on ramène le pH à 7,6 et on filtre sur bougie Chamberland.

Tous les tubes ensemencés avec R. III donnent une culture évidente, mais discrète, du bacille du rouget, dont les formes se révèlent régulières à l'examen microscopique.

Deuxième échantillon. — Recueilli au voisinage d'une porcherie, où le rouget sévit régulièrement, dans la commune de Saint-Romain. La recherche du bacille se montre complètement négative.

Après huit jours de macération, le liquide obtenu donne un pH de 8. Après addition de peptone et de chlorure de sodium, on le ramène à 7,6. Après seize heures de séjour à l'étuve à 37°, la race R. III s'y déve-

loppe de façon nette, mais médiocre. Les formes microbiennes obtenues sont courtes, régulières. Ici encore, terre médiocrement apte à la culture du rouget.

**Terres recueillies dans le Var par le D^r Faure-Brac,
directeur régional des Services vétérinaires du Var**

Cet échantillon a été recueilli tout à proximité d'une porcherie où l'on élève depuis trente ans, chaque année, de 70 à 100 porcs.

A plusieurs reprises, le rouget a été constaté dans l'exploitation pendant ces dernières années.

La recherche du bacille se montre complètement négative, malgré plusieurs tentatives effectuées dans les formes déjà précisées.

Première épreuve. — Après trois jours de macération, le liquide obtenu donne un pH de 7,8. Après addition de peptone et de chlorure de sodium on l'ajuste à 7,6.

Les tubesensemencés donnent après seize heures de bonnes cultures du bacille spécifique, cultures abondantes et de formes régulières.

Deuxième épreuve. — On l'effectue sur une macération de huit jours, finalement ajustée au pH de 7,6. Le même résultat positif est obtenu et l'on ne peut douter que l'échantillon de terre examiné soit vraiment favorable au développement du bacille du rouget.

**Terre recueillie par le D^r Pleindoux,
directeur des Services vétérinaires de Vaucluse**

Prélevée à Cavaillon, à 10 mètres d'une porcherie, dans laquelle a sévi six mois auparavant une épizootie de rouget.

Malgré la multiplicité des ensemencements réalisés,

il n'a pas été possible de mettre en évidence le bacille du rouget, mais une flore microbienne abondante et variée a été isolée.

Toujours dans les mêmes conditions d'intervention et après huit jours de macération, on obtient un échantillon de pH 8,2. Après addition de peptone et de chlorure de sodium et avant filtration, le milieu est ajusté au pH 7,6.

Une série de tubes estensemencée avec la race R. III. A la seizième heure, on relève le développement d'une culture médiocre du bacille du rouget qui, au microscope, se montre peu catégoriquement gramophile.

CONCLUSIONS. -- Ainsi donc, il est des sols provenant des régions indemnes de l'infection, qui ne se prêtent en rien à la culture du bacille du rouget, alors même qu'ils ont été amendés par apport de substances azotées ou hydrocarbonées. D'autres sols, après enrichissement par ces mêmes éléments, ne constituent encore, quoique les conditions de pH soient satisfaites, que de très médiocres milieux de culture.

Par opposition neuf échantillons de terres, prélevés dans des régions infectées au voisinage de foyers enzootiques permanents, se sont montrés favorables au développement du bacille du rouget. Tous n'avaient pas une égale valeur comme milieux de culture. Tous, tout au moins, se révélaient susceptibles, après ou sans amendements, de cultiver plus ou moins abondamment le microbe de Pasteur et Thuillier.

Il apparaît donc bien que selon les régions ou milieux considérés, la vie saprophytique du bacille du rouget soit susceptible ou non d'assurer la pérennité de l'infection.

CONCLUSIONS

Il apparaît, toutes réserves étant faites sur la constitution des divers milieux de culture, que la concentration optima de ceux-ci en ions H doit correspondre au $\text{pH} = 7,6$. La culture peut être obtenue jusqu'au $\text{pH} 8,4$; elle cesse de l'être à $\text{pH} 5,8$.

Si l'on peut considérer que le bacille du rouget est un microbe à la fois aérobie et anaérobie, on n'est pas en droit de dire qu'il cultive mieux, d'une manière générale, en l'absence d'oxygène libre.

L'addition de glucose au bouillon de culture favorise beaucoup la culture qui, dans certains cas, peut être double en valeur de celle obtenue en milieu non glucosé.

L'introduction de lactose, dans les mêmes proportions, donne des résultats très sensiblement équivalents.

La glycérine se révèle manifestement néfaste au développement du bacille en bouillon Martin.

Quelle que soit la constitution des milieux de culture envisagés, l'addition de carbonate de chaux ne prolonge pas la période du développement du germe.

L'addition de sérum normal de cheval, aux divers milieux, étend les possibilités de culture au bacille du rouget par rapport au pH , aussi bien dans le sens de l'alcalinité que dans le sens de l'acidité. Le sérum joue ainsi le rôle de solution tampon. Il améliore, en outre, la qualité nutritive du milieu.

Le bacille cultive normalement dans le lait entier. Sa vitalité s'y conserve jusqu'à quatre-vingt-quinze jours, sans coagulation du milieu.

Par contre, il faut écarter l'hypothèse de la possibilité d'une culture dans le petit lait destiné à l'alimenta-

tion des pores; l'acidité de ce milieu est, en effet, trop élevée et ne permet pas la survie du bacille.

Il apparaît que, si l'antagonisme *Pasteurella*-bacille du rouget ne s'observe pas, l'antagonisme bacille paratyphique-bacille du rouget peut intervenir en certaines conditions.

En ce qui concerne la morphologie du bacille, nous avons remarqué la fréquence des formes courtes dans les cultures sur lait, lactosérum, eau physiologique peptonée et macération de terres. Il y a, au contraire, prédominance de formes longues en milieux anaérobies, dans les cultures mixtes avec d'autres bactéries, et de formes très longues, entortillées, en bouillon lactosé à 2 p. 1.000.

Les alluvions quaternaires se révèlent incomparablement fertiles à l'égard du rouget, puisque nous y avons noté plus de 34 p. 100 des foyers de la maladie portés à notre connaissance. D'autre part, comme ce système géologique constitue le sol le plus riche en germes, d'une manière générale, ce fait doit être considéré comme une preuve nouvelle de l'origine saprophytique de nombre de cas de rouget.

Des terres provenant de régions indemnes de l'infection ne se prêtent en rien à la culture du bacille du rouget. Par opposition, d'autres prélevées dans des régions infectées, au voisinage de foyers enzootiques permanents, se sont montrées favorables au développement du microbe de Pasteur et Thuillier.

Il apparaît donc bien que, selon les régions considérées, la vie saprophytique du bacille du rouget soit susceptible ou non d'assurer la pérennité de l'infection.

VU : *Le Doyen*,
H. ROGER.

VU : *Le Président*,
A. LEMIERRE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE

- BRIDÉ (J.) et JOUAN (C.) — Action du sérum spécifique sur le bacille du rouget des porcs. *C. R. Soc. Biol.*, 1914, T. LXXVII, f. 541.
- FROMAGEOT (O.). — Sur les écarts que peut présenter la concentration en ions H. du sol, en des points très voisins. *C. R. A. Sc. T.* CLXXXVI, 1928, p. 787.
- FALK (H.). — Influence des infections associées et des infections secondaires sur le bacille du rouget et sur l'immunité contre le rouget. *Centralblatt für Bakteriologie* (Origin.). T. LV, N° 6, p. 464, 467.
- GRAFE (Fr.). — Die Rotlaufimpfkultur und ihre Bewertung. *D. Tierärztliche W.*, 1923, f. 507.
- HESSE (E.). — Einfluss der Reaktion, insbesondere des Bodens auf die Fortentwicklung des Rotlauf- bzw. Murisepticusbacillus. *A. f. Tierhkl.*, 1923, f. 168.
- HEHNE. — Les causes occasionnelles des enzooties de rouget. *B. Tierärztl. W.*, 10 octobre 1907, p. 735.
- KETTLITZ. — Die Ermittlung des Alkalitätsoptimums für die Züchtung des Rotlaufbacillus, etc. *A. f. Wiss. Tierhkl.*, 1924, f. 848.
- KITT. — Die Streptothrixformen des Rotlaufbacillus. *Centralbl. f. Bakt.* 1897. T. XXII, p. 726.
- KOVES (J.) et HIRT (G.). — La virulence des bacilles du rouget. *Allatorvosi Lapok* 1927, p. 195.
- LANGRAND (P.). — Les différentes formes du bacille du rouget dans l'organisme du porc. *Hyg. de la viande et du lait*, 1912, f. 361.
- LYELL (Sir Charles). — Traité de Géologie, 1875.
- MARMORSTEIN (J.). — Über die Vermehrung tierpathogener Bakterien in steriler Erde. *Tierärztl. Rdsch.*, 1924, f. 143.
- MELONI. — Die alcune ricerche sperimentali sul virus del mal rossino. *Clinica Veterinaria*, 1914, p. 271.
- MESNIL. — Sur le mode d'action du sérum préventif contre le rouget du porc. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1898, p. 481.
- NOCARD (E.). — Endocardite fibrineuse chez un porc atteint de rouget. *Bull. Soc. Centr. Méd. Vét.*, 30 décembre 1903, p. 696.

- NOCARD (E.) et LECLAINCHE (E.). — Les maladies microbiennes des animaux, 3^e édit. Paris, 1902.
- PANISSET et KOLDA. — L'influence de la bile sur le bacille du Rouget. *C. R. Soc. Biol.*, 1924, p. 343.
- SAGNE (J.). — Etude clinique et épidémiologique du rouget du porc sur les hauts plateaux Algériens. Thèse. Faculté de Paris, 1926.
- SCHNURER. — Prüfung von Involutionsformen des Schweinerotlaufbacillus auf Unschädlichkeit und immunisierende Wirkung bei weissen Mäusen. *B. Tierärztl. W.*, 1925, f. 405.
- STATISTIQUE DES ANIMAUX DE FERME. — Race porcine, 1928. *Journal Officiel*, 16 juillet 1929.
- SPRYSZRAK et SZYMANOWSKI. — Sur la variabilité du B. du rouget du porc. *C. R. Soc. Biol. T. C.*, N° 13, p. 1151.
- STICKDORN (W.). — Die keimtötende Wirksamkeit des Wassers und Wasserlichen Lösungen auf Rotlaufbacillen. *Cbl. f. Bakt. (Orig.)*, 1918. T. LXXXI, f. 549.
- Untersuchungen über die Lebensfähigkeit der Rotlaufbakterien. *Tierärztl. Rdsch.*, 1923, f. 663.
- ZIBERT (S.). — Zur Biologie der Schweinerotlaufbacillen. *Wien tier. Mschr.*, 1922, f. 396.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Avant-propos	9
Etude comparée des divers milieux de culture.....	11
Recherche du pH optimum des milieux de culture.....	37
Influence de l'anaérobiose.....	49
Bacille du rouget et antagonisme microbien.....	58
Variations morphologiques du bacille du rouget.....	69
Les divers sols et la répartition géographique du rouget.	75
Foyers infectieux et nature des sols.....	79
Essais de culture du bacille du rouget dans les divers sols.	96
Conclusions	111
Bibliographie	113
